

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
20. September 2001 (20.09.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/68698 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **C07K 14/705**

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/02837

(22) Internationales Anmeldedatum:
14. März 2001 (14.03.2001)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
100 13 296.0 17. März 2000 (17.03.2000) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **BOEHRINGER INGELHEIM PHARMA KG** [DE/DE]; 55216 Ingelheim/ Rhein (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **SCHULTZ, Guenter** [DE/DE]; Dardanellenweg 30, 12109 Berlin (DE).
PLANT, Timothy [GB/DE]; Potsdamer Str. 16, 12205

Berlin (DE). **STROTMANN, Rainer** [DE/DE]; Goethes-
trasse 20, 12207 Berlin (DE). **HARTENECK, Christian**
[DE/DE]; Weddigenweg 61, 12205 Berlin (DE). **NUN-
NENMACHER, Karin** [DE/DE]; Strasse am Schoeler-
park 26, 10715 Berlin (DE).

(74) Anwalt: **LAUDIEN, Dieter**; Boehringer Ingelheim
GmbH, 55216 Ingelheim am Rhein (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): CA, JP, MX, US.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): europäisches Patent (AT,
BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,
NL, PT, SE, TR).

Veröffentlicht:
— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu
veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: NOVEL NON-SELECTIVE CATION CHANNEL

(54) Bezeichnung: NEUER NICHTSELEKTIVER KATIONENKANAL

(57) Abstract: The present invention relates to nucleic acids which code for the non-selective cation channel OTRPC4 and to polypeptides which are coded by said nucleic acids. The invention also relates to hosts or host cells that express said polypeptide and to methods for finding blocking agents, activators and modulators of said OTRPC4 cation channels. The invention further relates to blocking agents, activators and modulators of said OTRPC4 cation channels and to pharmaceutical compositions containing said blocking agents, activators and modulators. The invention further relates to non-human mammals that contain OTRPC4 as a transgene, inactivated gene (knock-out) or modified gene (knock-in).

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft Nukleinsäuren, die für den nicht-selektiven Kationenkanal OTRPC4 kodieren, sowie Polypeptide, die durch besagte Nukleinsäuren kodiert werden. Weiterhin betrifft die Erfindung Wirte bzw. Wirtszellen, die besagtes Polypeptid exprimieren und Verfahren zum Auffinden von Blocker, Aktivator sowie Modulatoren besagter OTRPC4-Kationenkanäle. Die Erfindung umfasst Blocker, Aktivatoren und Modulatoren besagter OTRPC4-Kationenkanäle sowie pharmazeutische Zusammensetzungen enthaltend besagte Blocker, Aktivatoren und Modulatoren. Ausserdem betrifft die Erfindung nicht humane Säuger, die entweder OTRPC4 als Transgen, inaktiviertes Gen (knock-out) oder modifiziertes Gen (knock-in) enthalten.

WO 01/68698 A2

BEST AVAILABLE COPY

Neuer nichtselektiver Kationenkanal

Die vorliegende Erfindung betrifft Nukleinsäuren, die für den nicht-selektiven Kationenkanal OTRPC4 kodieren sowie Polypeptide, die durch besagte Nukleinsäuren kodiert werden. Weiterhin betrifft die Erfindung Wirte bzw. Wirtszellen, die besagtes Polypeptid exprimieren und Verfahren zum Auffinden von Blocker, Aktivatoren sowie Modulatoren besagter OTRPC4-Kationenkanäle. Die Erfindung umfaßt Blocker, Aktivatoren und Modulatoren besagter OTRPC4-Kationenkanäle sowie pharmazeutische Zusammensetzungen enthaltend besagte Blocker, Aktivatoren und Modulatoren. Außerdem betrifft die Erfindung nicht humane Säuger, die entweder OTRPC4 als Transgen, inaktiviertes Gen (knock-out) oder modifiziertes Gen (knock-in) enthalten.

Hintergrund der Erfindung

Zellen sind je nach physiologischem Zustand des Gewebes, dem sie angehören unterschiedlichen extrazellulären Ionenkonzentrationen und damit unterschiedlichen Osmolaritäten ausgesetzt. Ein Absinken der extrazellulären Osmolarität führt zu einer intrazellulären Volumenzunahme durch Einstrom extrazellulärer Flüssigkeit. Diese Volumenzunahme bedroht die Homöostase der Zelle, so daß die Evolution ein Mechanismus entwickelte, dessen Aktivierung dazu führt, daß eine Zelle, die osmotisch bedingte Volumenzunahme aktiv gegenregulieren kann. Dieser Mechanismus wird als „regulated volume decrease“ (RVD) bezeichnet (zur Übersicht siehe Ref. 1). Der molekulare Mechanismus, der dem RVD zugrunde liegt, ist bisher nicht bekannt, allerdings wurde in verschiedenen Studien ein transienter Anstieg der intrazellulären Kalziumkonzentrationen nachgewiesen, der mit der Volumenregulation einherging und durch Lanthan und Gadolinum hemmbar war. Möglicherweise ist also ein nicht-selektiver Kalzium-durchgängiger Kanal an dem RVD beteiligt.

In *C. elegans* wurde eine cDNA kloniert, die für einen Kanal kodiert, der Verwandtschaften zu der TRP („transient receptor potential“)-Familie von nicht-selektiven Kationenkanälen aufweist. Dieser Kanal ist für die Reaktionen von *C. elegans* auf Lösungen mit hoher Osmolarität verantwortlich und wurde deshalb OSM-9 genannt (2). Bisher ist aber noch nichts zu den biophysikalischen Charakteristika von OSM-9 bekannt, eine entsprechendes homologes Protein wurde bisher auch nicht für Säugetiere beschrieben.

Die Familie von TRP-Kanälen (TRPCs) (3) kann in drei unterschiedliche Subfamilien unterteilt werden (4). Die größte Familie bildet die STRP-Subfamilie (short TRP; benannt nach ihrem kurz N-Terminus), bestehend aus den klassischen Drosophila-Kanäle TRP und TRPL (transient receptor potential-like) (5) sowie 7 Säugerhomologen von TRP (TRPC1-7) (6-15). Die Kanäle dieser Familie sind beteiligt an dem Kalzium-Einstrom, der durch die Aktivierung von Rezeptoren ausgelöst wird, denen gemeinsam ist, daß sie die Phospholipase C aktivieren. Die zweite Unterfamilie der TRPCs wurde OTRPC benannt, nach dem ersten Vertreter dieser Familie OSM-9. Die Kanäle dieser Familie werden aktiviert durch chemische und physikalische Reize. Zur OTRPC-Familie gehören der Vanilloid-Rezeptor (VR1) (16, 17), der vanilloid-like receptor (VRL-1, auch als GRC bekannt) (18, 19), und ein Kanal, dessen mögliche Funktion, die eines epithelialen Kalzium-Kanals ist (ECaC oder auch als CaT1 bekannt) (20, 21). VR1 ist ein nicht-selektiver Kalzium-permeabler Kanal, der aus dorsalen Ganglien-Zellen der Ratten kloniert wurde (16). Dieser Kanal wird aktiviert durch Hitze und durch die Substanz Capsaicin, die Schmerz-auslösend wirkt. Der kürzlich klonierte, dem VR1 verwandte Kanal, VRL-1, kann durch Hitze aktiviert werden und könnte in der Schmerzrezeption beteiligt sein (18). Allerdings könnte sein weit verbreitete Expression auch ein Hinweis dafür sein, daß dieser Kanal noch andere Funktionen hat, z.B. wurde kürzlich gezeigt, daß dieser Kanal an dem intrazellulären Transport des „insulin-like growth factor-1“ (IGF-1) beteiligt ist (19). Andere Mitglieder dieser OTRPC-Familie sind ECaC, der aus Kaninchen-Niere kloniert wurde (20) und CaT1 (21), der aus Ratten-Duodenum kloniert wurde; beide Kanäle sind in der Sequenz identisch und sind an der Vitamin D ausgelösten Einstrom von Kalzium in epithelialen Zellen beteiligt (20, 21). Die dritte TRP-Subfamilie wurde LTRPC genannt (long TRP channels, nach ihrem langen N-terminus benannt) und besteht bislang aus den beiden Mitgliedern Melastatin (22) und TRPC7 (23).

Die WO 00/32766 offenbart humane Vanilloid-Rezeptoren und deren Verwendung.

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, einen neuen TRP-Kanal mit vorteilhaften Eigenschaften gegenüber den oben beschriebenen, aus dem Stand der Technik bekannten Kanälen bereit zu stellen.

Beschreibung der Erfindung

Die Aufgabe wurde im Rahmen der Ansprüche und Beschreibung der vorliegenden Erfindung gelöst.

Die Verwendung der Einzahl oder des Plurals in den Ansprüchen oder der Beschreibung
5 soll in keiner Weise limitierend sein und die andere Form ebenfalls mit einschließen. RNA und RNS bzw. DNA und DNS haben jeweils die gleiche Bedeutung.

Die Erfindung betrifft eine Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie für den nicht-selektiven Kationenkanal OTRPC4 oder für ein Fragment, eine funktionelle Variante, eine
10 alle Variante, eine Untereinheit kodiert, oder Varianten der besagten Nukleinsäure aufgrund des degenerativen Kodes oder eine Nukleinsäure, die an besagte Nukleinsäure hybridisieren kann. Der erfindungsgemäße Kationenkanal bzw. OTRPC4 Polypeptide sind weiter unten beschrieben. Erfindungsgemäße OTRPC4 Nukleinsäuren sind bevorzugt eukaryontische Nukleinsäuren, besonders bevorzugt humane oder murine, aber auch aus der
15 Ratte, Hamster, Ziegen, Rinder, Schweine, Schafe, Hund, Katze, Affen sowie weiteren dem Fachmann bekannte Eukaryonten. Beispielsweise ist besagte Nukleinsäure eine rekombinant hergestellte Nukleinsäure, z.B. eine cDNS. In den Abbildungen bzw. in dem Beispiel sind exemplarisch erfindungsgemäße Nukleinsäuren gezeigt.

Bevorzugt ist eine erfindungsgemäße Nukleinsäure RNS.

20 Weiterhin bevorzugt ist eine erfindungsgemäße Nukleinsäure DNS.

Weiterhin bevorzugt ist eine erfindungsgemäße Nukleinsäure dadurch gekennzeichnet, daß sie 5' oder 3' oder 5' und 3' untranslatierte Regionen enthält. Die erfindungsgemäße Nukleinsäure kann stromaufwärts und oder stromabwärts weitere untranslatierte Bereiche enthalten. Besagte untranslatierte Region kann ein regulatorisches Element, wie z.B. einen
25 Transkriptionsinitiationseinheit (Promoter) oder Enhancer umfassen. Besagter Promoter kann beispielsweise ein konstitutiv aktiver oder induzierbarer oder Entwicklungsgesteuerter Promoter sein. Bevorzugt, ohne weitere bekannte Promoter auszuschließen, sind die konstitutiven Promoter des humanen Cytomegalovirus (CMV) und Rous Sarkomvirus (RSV), ebenso wie der Simianvirus 40 (SV40) und Herpes simplex Virus (HSV) Promoter.

30 Erfindungsgemäße induzierbare Promoter umfassen Antibiotikum resistente Promoter, Hitzeschockpromoter, Hormon-induzierbare „Mouse Mammary Tumor Virus“ (MMTV)-Promoter und den Metallothionein-Promoter.

Weiterhin bevorzugt ist eine erfindungsgemäße Nukleinsäure dadurch gekennzeichnet, daß sie für ein Fragment des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 kodiert.

Weiterhin bevorzugt ist eine erfindungsgemäße Nukleinsäure dadurch gekennzeichnet, daß sie für eine funktionelle Variante des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 kodiert.

5 Weiterhin bevorzugt ist eine erfindungsgemäße Nukleinsäure dadurch gekennzeichnet, daß sie für eine allele Variante des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 kodiert.

Weiterhin bevorzugt ist eine erfindungsgemäße Nukleinsäure dadurch gekennzeichnet, daß sie für Varianten der Nukleinsäure aufgrund des degenerativen Codes kodiert.

Weiterhin bevorzugt ist eine Nukleinsäure dadurch gekennzeichnet, daß sie an eine
10 erfindungsgemäße Nukleinsäure unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann. Stringente Bedingungen sind dem Fachmann bekannt und finden sich insbesondere in Sambrook et al. (1989). Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.

Weiterhin bevorzugt ist eine erfindungsgemäße Nukleinsäure dadurch gekennzeichnet, daß
15 besagter nicht-selektiver Kationenkanal OTRPC4 ein Säugerkationenkanal ist.

Weiterhin bevorzugt ist eine erfindungsgemäße Nukleinsäure dadurch gekennzeichnet, daß besagter nicht-selektiver Kationenkanal OTRPC4 murin ist.

Weiterhin bevorzugt ist eine erfindungsgemäße Nukleinsäure dadurch gekennzeichnet, daß besagter nicht-selektiver Kationenkanal OTRPC4 human ist.

20 Weiterhin bevorzugt ist eine Nukleinsäure, die dadurch gekennzeichnet ist, daß sie die Sequenz

CTCTACCGCCTACTACCAGCCGCTGGAGGGCACAATGGCGGATTCCAGCGAA
GGCCCCCGCGCGGGGCCCCGGGGAGGTGGCTGAGCTCCCCGGGGATGAGAGTGG
CACCCCAGGTGGGGAGGCTTTTCCTCTCTCCTCCCTGGCCAATCTGTTTGAGGG
25 GGAGGATGGCTCCCTTTTCGCCCTACCGGCTGATGCCAGTCGCCCTGCTGGCCC
AGGCGATGGGCGACCAAATCTGCGCATGAAGTTCCAGGGCGCCTTCCGCAAGG
GGGTGCCCAACCCCATCGATCTGCTGGAGTCCACCCTATATGAGTCCTCGGTGG
TGCCTGGGCCCAAGAAAGCACCCATGGACTCACTGTTTGACTACGGCACCTATC
GTCACCACTCCAGTGACAACAAGAGGTGGAGGAAGAAGATCATAGAGAAGCAG
30 CCGCAGAGCCCCAAAGCCCCTGCCCCTCAGCCGCCCCCATCCTCAAAGTCTTC
AACCGGCCTATCCTCTTTGACATCGTGTCCCGGGGCTCCACTGCTGACCTGGAC
GGGCTGCTCCCATTCTTGCTGACCCACAAGAAACGCCTAACTGATGAGGAGTTT

CGAGAGCCATCTACGGGGAAGACCTGCCTGCCCAAGGCCTTGCTGAACCTGAG
CAATGGCCGCAACGACACCATCCCTGTGCTGCTGGACATCGCGGAGCGCACCG
GCAACATGCGGGAGTTCATTAACCTCGCCCTTCCGTGACATCTACTATCGAGGTC
AGACAGCCCTGCACATCGCCATTGAGCGTCGCTGCAAACACTACGTGGAACCTTC
5 TCGTGGCCCAGGGAGCTGATGTCCA₆GCCCAGGCCCGTGGGCGCTTCTTCCAGC
CCAAGGATGAGGGGGGCTACTTCTACTTTGGGGAGCTGCCCCCTGTCGCTGGCTG
CCTGCACCAACCAGCCCCACATTGTCAACTACCTGACGGAGAACCCCCACAAGA
AGGCGGACATGCGGCGCCAGGACTCGCGAGGCAACACAGTGCTGCATGCGCTG
GTGGCCATTGCTGACAACACCCGTGAGAACACCAAGTTTGTACCAAGATGTAC
10 GACCTGCTGCTGCTCAAGTGTGCCCGCCTCTTCCCCGACAGCAACCTGGAGGCC
GTGCTCAACAACGACGGCCTCTCGCCCCCTCATGATGGCTGCCAAGACGGGCAA
GATTGGGATCTTTCAGCACATCATCCGGCGGGAGGTGACGGATGAGGACACAC
GGCACCTGTCCCGCAAGTTCAAGGACTGGGCCTATGGGCCAGTGTATTCCTCGC
TTTATGACCTCTCCTCCCTGGACACGTGTGGGGAAGAGGCCCTCCGTGCTGGAGA
15 TCCTGGTGTACAACAGCAAGATTGAGAACCGCCACGAGATGCTGGCTGTGGAG
CCCATCAATGAACTGCTGCGGGACAAGTGGCGCAAGTTCGGGGCCGTCTCCTTC
TACATCAACGTGGTCTCCTACCTGTGTGCCATGGTCATCTTCACTCTACCGCCT
ACTACCAGCCGCTGGAGGGCACACCGCCGTACCCTTACCGCACACGGTGGAC
TACCTGCGGCTGGCTGGCGAGGTCATTACGCTCTTCACTGGGGTCTCTTCTTC
20 TTCACCAACATCAAAGACTTGTTTCATGAAGAAATGCCCTGGAGTGAATTCTCTC
TTCATTGATGGCTCCTTCCAGCTGCTCTACTTCATCTACTCTGTCTGGTGATCG
TCTCAGCAGCCCTCTACCTGGCAGGGATCGAGGCCTACCTGGCCGTGATGGTCT
TTGCCCTGGTCTCTGGGCTGGATGAATGCCCTTTACTTCACCCGTGGGCTGAAGC
TGACGGGGACCTATAGCATCATGATCCAGAAGATTCTCTTCAAGGACCTTTTCC
25 GATTCTGCTCGTCTACTTGCTCTTCATGATCGGCTACGCTTCAGCCCTGGTCTC
CCTCCTGAACCCGTGTGCCAACATGAAGGTGTGCAATGAGGACCAGACCAACT
GCACAGTGCCCACTTACCCCTCGTGCCGTGACAGCGAGACCTTCAGCACCTTCC
TCCTGGACCTGTTTAAGCTGACCATCGGCATGGGCGACCTGGAGATGCTGAGCA
GCACCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCATCCTGCTGGTGACCTACATCATCCTCA
30 CCTTTGTGCTGCTCCTCAACATGCTCATTGCCCTCATGGGCGAGACAGTGGGCC
AGGTCTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAGCTGCAGTGGGCCACCACCATC
CTGGACATTGAGCGCTCCTTCCCCGTATTCCTGAGGAAGGCCTTCCGCTCTGGG

GAGATGGTCACCGTGGGCAAGAGCTCGGACGGCACTCCTGACCGCAGGTGGTG
CTTCAGGGTGGATGAGGTGAACTGGTCTCACTGGAACCAGAACTTGGGCATCA
TCAACGAGGACCCGGGCAAGAATGAGACCTACCAGTATTATGGCTTCTCGCATA
CCGTGGGCCCGCCTCCGCAGGGATCGCTGGTCCCTCGGTGGTACCCCGCGTGGTG
5 GAACTGAACAAGAACTCGAACCCGGACGAGGTGGTGGTGCCTCTGGACAGCAT
GGGGAACCCCCGCTGCGATGGCCACCAGCAGGGTTACCCCGCAAGTGGAGGA
CTGAGGACGCCCCGCTCTAGGGACTGCAGCCCAGCCCCAGCTTCTCTGCCCACT
CATTTCTAGTCCAGCCGCATTTTCAGCAGTGCCTTCTGGGGTGTCCCCCACACC
CTGCTTTGGCCCCAGAGGCGAGGGACCAGTGGAGGTGCCAGGGAGGCCCCAGG
10 ACCCTGTGGTCCCCTGGCTCTGCCTCCCCACCCTGGGGTGGGGGCTCCCGGCCA
CCTGTCTTGCTCCTATGGAGTCACATAAGCCAACGCCAGAGCCCCTCCACCTCA
GGCCCCAGCCCCCTGCCTCTCCATTATTTATTTGCTCTGCTCTCAGGAAGCGACG
TGACCCTGCCCCAGCTGGAACCTGGCAGAGGCCTTAGGACCCCGTTCCAAGTG
CACTGCCCCGCCAAGCCCCAGCCTCAGCCTGCGCCTGAGCTGCATGCGCCACCA
15 TTTTGGCAGCGTGGCAGCTTTGCAAGGGGCTGGGGCCCTCGGCGTGGGGCCA
TGCCTTCTGTGTGTTCTGTAGTGTCTGGGATTTGCCGGTGCTCAATAAATGTTTA
TTCATTGACGGTGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

oder eine Teilsequenz hiervon, eine Nukleinsäure, die an besagte Sequenz unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann, eine allele Variante oder eine funktionelle Variante von
20 besagter Sequenz oder eine Variante der Nukleinsäure aufgrund des degenerativen Codes umfaßt. Erfindungsgemäß ist mit der oben dargestellten Sequenz die humane OTRPC4 DNS Sequenz mit 5' und 3'-untranslatierten Sequenzen umfaßt.

Die erfindungsgemäßen Nukleinsäuren sind nach der international anerkannten IUPAC Nomenklatur angegeben, d.h. unter R wird ein A oder G, unter M ein A oder C, unter S ein
25 C oder G, unter Y ein C oder T, unter K ein G oder T und unter W ein A oder T verstanden.

Weiterhin bevorzugt ist eine Nukleinsäure, die dadurch gekennzeichnet ist, daß sie die Sequenz

CTCTCACCGCCTACTACCAGCCGCTGGAGGGCACAATGGCGGATTCCAGCGAA
30 GGCCCCCGCGCGGGGCCCCGGGGAGGTGGCTGAGCTCCCCGGGGATGAGAGTGG
CACCCCAGGTGGGGAGGCTTTTCCTCTCTCCTCCCTGGCCAATCTGTTTGAGGG
GGAGGATGGCTCCCTTTCGCCCTCACCGGCTGATGCCAGTCGCCCTGCTGGCCC

AGGCGATGGGCGACCAAATCTGCGCATGAAGTTCCAGGGCGCCTTCCGCAAGG
GGGTGCCCAACCCCATCGATCTGCTGGAGTCCACCCTATATGAGTCCTCGGTGG
TGCCTGGGCCCAAGAAAGCACCCATGGACTCACTGTTTGACTACGGCACCTATC
GTCACCACTCCAGTGACAACAAGAGGTGGAGGAAGAAGATCATAGAGAAGCAG
5 CCGCAGAGCCCCAAAGCCCCTGCCCCTCAGCCGCCCCCATCCTCAAAGTCTTC
AACCGGCCTATCCTCTTTGACATCGTGTCCCGGGGCTCCACTGCTGACCTGGAC
GGGCTGCTCCCATTTCTTGCTGACCCACAAGAAACGCCTAACTGATGAGGAGTTT
CGAGAGCCATCTACGGGGAAGACCTGCCTGCCCAAGGCCTTGCTGAACCTGAG
CAATGGCCGCAACGACACCATCCCTGTGCTGCTGGACATCGCGGAGCGCACCG
10 GCAACATGCGGGAGTTCATTAACCTCGCCCTTCCGTGACATCTACTATCGAGGTC
AGACAGCCCTGCACATCGCCATTGAGCGTCGCTGCAAACACTACGTGGAACCTTC
TCGTGGCCCAAGGAGCTGATGTCCACGCCCAAGGCCGTGGGCGCTTCTTCCAGC
CCAAGGATGAGGGGGGCTACTTCTACTTTGGGGAGCTGCCCTGTCGCTGGCTG
CCTGCACCAACCAGCCCCACATTGTCAACTACCTGACGGAGAACCCCCACAAGA
15 AGGCGGACATGCGGCGCCAGGACTCGCGAGGCAACACAGTGCTGCATGCGCTG
GTGGCCATTGCTGACAACACCCGTGAGAACACCAAGTTTGTTACCAAGATGTAC
GACCTGCTGCTGCTCAAGTGTGCCCGCCTCTTCCCCGACAGCAACCTGGAGGCC
GTGCTCAACAACGACGGCCTCTCGCCCCTCATGATGGCTGCCAAGACGGGCAA
GATTGGGATCTTTTCAGCACATCATCCGGCGGGAGGTGACGGATGAGGACACAC
20 GGCACCTGTCCCGCAAGTTCAAGGACTGGGCCTATGGGCCAGTGTATTCTCTCGC
TTTATGACCTCTCCTCCCTGGACACGTGTGGGGAAGAGGCCTCCGTGCTGGAGA
TCCTGGTGTACAACAGCAAGATTGAGAACCGCCACGAGATGCTGGCTGTGGAG
CCCATCAATGAACTGCTGCGGGACAAGTGGCGCAAGTTCGGGGCCGTCTCCTTC
TACATCAACGTGGTCTCCTACCTGTGTGCCATGGTCATCTTCACTCTCACCGCCT
25 ACTACCAGCCGCTGGAGGGCACACCGCCGTACCCTTACCGCACCAACGGTGGAC
TACCTGCGGCTGGCTGGCGAGGTCATTACGCTCTTCACTGGGGTCCTGTTCTTC
TTCACCAACATCAAAGACTTGTTTCATGAAGAAATGCCCTGGAGTGAATTCTCTC
TTCATTGATGGCTCCTTCCAGCTGCTCTACTTCATCTACTCTGTCCTGGTGATCG
TCTCAGCAGCCCTCTACCTGGCAGGGATCGAGGCCTACCTGGCCGTGATGGTCT
30 TTGCCCTGGTCCTGGGCTGGATGAATGCCCTTTACTTCACCCGTGGGCTGAAGC
TGACGGGGACCTATAGCATCATGATCCAGAAGATTCTCTTCAAGGACCTTTTCC
GATTCTGCTCGTCTACTTGCTCTTCATGATCGGCTACGCTTCAGCCCTGGTCTC

CCTCCTGAACCCGTGTGCCAACATGAAGGTGTGCAATGAGGACCAGACCAACT
GCACAGTGCCCACTTACCCCTCGTGCCGTGACAGCGAGACCTTCAGCACCTTCC
TCCTGGACCTGTTTAAGCTGACCATCGGCATGGGCGACCTGGAGATGCTGAGCA
GCACCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCATCCTGCTGGTGACCTACATCATCCTCA
5 CCTTTGTGCTGCTCCTCAACATGCTCATTGCCCTCATGGGCGAGACAGTGGGCC
AGGTCTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAGCTGCAGTGGGCCACCACCATC
CTGGACATTGAGCGCTCCTTCCCCGTATTCTGAGGAAGGCCTTCCGCTCTGGG
GAGATGGTCACCGTGGGCAAGAGCTCGGACGGCACTCCTGACCGCAGGTGGTG
CTTCAGGGTGGATGAGGTGAACTGGTCTCACTGGAACCAGAACTTGGGCATCA
10 TCAACGAGGACCCGGGCAAGAATGAGACCTACCAGTATTATGGCTTCTCGCATA
CCGTGGGCCCGCCTCCGCAGGGATCGCTGGTCCTCGGTGGTACCCCGCGTGGTG
GAACTGAACAAGAACTCGAACCCGGACGAGGTGGTGGTGCCTCTGGACAGCAT
GGGGAACCCCGCTGCGATGGCCACCAGCAGGGTTACCCCGCAAGTGGAGGA
CTGAGGACGCCCCGCTCTAGGGACTGCAGCCCAGCCCCAGCTTCTCTGCCCACT
15 CATTTCTAGTCCAGCCGCATTTTCAGCAGTGCCTTCTGGGGTGTCCCCCACACC
CTGCTTTGGCCCCAGAGGCGAGGGACCAGTGGAGGTGCCAGGGAGGCCCCAGG
ACCCTGTGGTCCCCTGGCTCTGCCTCCCCACCCTGGGGTGGGGGCTCCCGGCCA
CCTGTCTTGCTCCTATGGAGTCACATAAGCCAACGCCAGAGCCCCTCCACCTCA
GGCCCCAGCCCCTGCCTCTCCATTATTTATTTGCTCTGCTCTCAGGAAGCGACG
20 TGACCCCTGCCCCAGCTGGAACCTGGCAGAGGCCTTAGGACCCCGTTCCAAGTG
CACTGCCCCGGCCAAGCCCCAGCCTCAGCCTGCGCCTGAGCTGCATGCGCCACCA
TTTTTGGCAGCGTGGCAGCTTTGCAAGGGGCTGGGGCCCTCGGCGTGGGGCCA
TGCCTTCTGTGTGTTCTGTAGTGTCTGGGATTTGCCGGTGCTCAATAAATGTTTA
TTCATTGACGGTGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

25 hat. Die oben dargestellten Sequenz ist erfindungsgemäß die humane OTRPC4 DNS Sequenz mit 5' und 3'-untranslatierten Sequenzen.

Weiterhin bevorzugt ist eine Nukleinsäure, die dadurch gekennzeichnet ist, daß sie die Sequenz

ATGGCGGATTCCAGCGAAGGCCCCCGCGCGGGGCCCCGGGGAGGTGGCTGAGCT
30 CCCCCGGGGATGAGAGTGGCACCCCAGGTGGGGAGGCTTTTCTCTCTCCTCCCT
GGCCAATCTGTTTGAAGGGGGAGGATGGCTCCCTTTCGCCCTCACCGGCTGATGC
CAGTCGCCCTGCTGGCCCAGGCGATGGGCGACCAAATCTGCGCATGAAGTTCC

AGGGCGCCTTCCGCAAGGGGGTGCCCAACCCCATCGATCTGCTGGAGTCCACC
CTATATGAGTCCTCGGTGGTGCCTGGGCCCAAGAAAGCACCCATGGACTCACTG
TTTGACTACGGCACCTATCGTCACCACTCCAGTGACAACAAGAGGTGGAGGAA
GAAGATCATAGAGAAGCAGCCGCAGAGCCCCAAAGCCCCTGCCCTCAGCCGC
5 CCCCCATCCTCAAAGTCTTCAACCGGCCTATCCTCTTTGACATCGTGTCCCGGG
GCTCCACTGCTGACCTGGACGGGCTGCTCCCATTTCTTGCTGACCCACAAGAAAC
GCCTAACTGATGAGGAGTTTCGAGAGCCATCTACGGGGAAGACCTGCCTGCCC
AAGGCCTTGCTGAACCTGAGCAATGGCCGCAACGACACCATCCCTGTGCTGCTG
GACATCGCGGAGCGCACCGGCAACATGCGGGAGTTCATTAACCTCGCCCTTCCGT
10 GACATCTACTATCGAGGTCAGACAGCCCTGCACATCGCCATTGAGCGTCGCTGC
AAACACTACGTGGAACCTTCTCGTGGCCCAGGGAGCTGATGTCCA₆GCCCAGGCC
CGTGGGCGCTTCTTCCAGCCCAAGGATGAGGGGGGCTACTTCTACTTTGGGGA
GCTGCCCCTGTCGCTGGCTGCCTGCACCAACCAGCCCCACATTGTCAACTACCT
GACGGAGAACCCCCACAAGAAGGCGGACATGCGGCGCCAGGACTCGCGAGGC
15 AACACAGTGCTGCATGCGCTGGTGGCCATTGCTGACAACACCCGTGAGAACAC
CAAGFTTGTTACCAAGATGTACGACCTGCTGCTGCTCAAGTGTGCCCGCCTCTT
CCCCGACAGCAACCTGGAGGCCGTGCTCAACAACGACGGCCTCTCGCCCCCTCAT
GATGGCTGCCAAGACGGGCAAGATTGGGATCTTTCAGCACATCATCCGGCGGG
AGGTGACGGATGAGGACACACGGCACCTGTCCCGCAAGTTCAAGGACTGGGCC
20 TATGGGCCAGTGTATTCCTCGCTTTATGACCTCTCCTCCCTGGACACGTGTGGG
GAAGAGGCCTCCGTGCTGGAGATCCTGGTGTACAACAGCAAGATTGAGAACCG
CCACGAGATGCTGGCTGTGGAGCCCATCAATGAACTGCTGCGGGACAAGTGGC
GCAAGTTCGGGGCCGTCTCCTTCTACATCAACGTGGTCTCCTACCTGTGTGCCA
TGGTCATCTTCACTCTCACCGCCTACTACCAGCCGCTGGAGGGGCACACCGCCGT
25 ACCCTTACCGCACCAACGGTGGACTACCTGCGGCTGGCTGGCGAGGTCATTACGC
TCTTCACTGGGGTCCTGTTCTTCTTCCCAACATCAAAGACTTGTTTCATGAAGA
AATGCCCTGGAGTGAATTCTCTCTTCATTGATGGCTCCTTCCAGCTGCTCTACTT
CATCTACTCTGTCCTGGTGTATCGTCTCAGCAGCCCTCTACCTGGCAGGGATCGA
GGCCTACCTGGCCGTGATGGTCTTTGCCCTGGTCCTGGGCTGGATGAATGCCCT
30 TTACTTCAACCGTGGGCTGAAGCTGACGGGGACCTATAGCATCATGATCCAGAA
GATTCTCTTCAAGGACCTTTTCCGATTCCCTGCTCGTCTACTTGCTCTTCATGATC
GGCTACGCTTCAGCCCTGGTCTCCCTCCTGAACCCGTGTGCCAACATGAAGGTG

TGCAATGAGGACCAGACCAACTGCACAGTGCCCACTTACCCCTCGTGCCGTGAC
AGCGAGACCTTCAGCACCTTCCTCCTGGACCTGTTTAAGCTGACCATCGGCATG
GGCGACCTGGAGATGCTGAGCAGCACCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCATCCTG
CTGGTGACCTACATCATCCTCACCTTTGTGCTGCTCCTCAACATGCTCATTGCC
5 TCATGGGCGAGACAGTGGGCCAGGTCTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAG
CTGCAGTGGGCCACCACCATCCTGGACATTGAGCGCTCCTTCCCGTATTTCCTG
AGGAAGGCCTTCCGCTCTGGGGAGATGGTCACCGTGGGCAAGAGCTCGGACGG
CACTCCTGACCGCAGGTGGTGCTTCAGGGTGGATGAGGTGAACTGGTCTCACTG
GAACCAGAACTTGGGCATCATCAACGAGGACCCGGGCAAGAATGAGACCTACC
10 AGTATTATGGCTTCTCGCATACCGTGGGCCGCTCCGCAGGGATCGCTGGTCCT
CGGTGGTACCCCGCGTGGTGGAACTGAACAAGAACTCGAACCCGGACGAGGTG
GTGGTGCCTCTGGACAGCATGGGGAACCCCGCTGCGATGGCCACCAGCAGGG
TTACCCCGCAAGTGGAGGACTGAGGACGCCCCGCTCTAG

oder eine Teilsequenz hiervon, eine Nukleinsäure, die an besagte Sequenz unter stringenten
15 Bedingungen hybridisieren kann, eine allele Variante oder eine funktionelle Variante von
besagter Sequenz oder eine Variante der Nukleinsäure aufgrund des degenerativen Codes
umfaßt. Erfindungsgemäß ist mit der oben dargestellten Sequenz die humane OTRPC4
cDNS Sequenz umfaßt.

Weiterhin bevorzugt ist eine Nukleinsäure, die dadurch gekennzeichnet ist, daß sie die
20 Sequenz

ATGGCGGATTCCAGCGAAGGCCCCCGCGCGGGGCCCCGGGGAGGTGGCTGAGCT
CCCCGGGGATGAGAGTGGCACCCCAGGTGGGGAGGCTTTTCCTCTCTCCTCCCT
GGCCAATCTGTTTGAGGGGGAGGATGGCTCCCTTTCGCCCTCACCGGCTGATGC
CAGTCGCCCTGCTGGCCCAGGCGATGGGCGACCAAATCTGCGCATGAAGTTCC
25 AGGGCGCCTTCCGCAAGGGGGTGCCCAACCCCATCGATCTGCTGGAGTCCACC
CTATATGAGTCCTCGGTGGTGCCTGGGCCCAAGAAAGCACCCATGGACTCACTG
TTTGACTACGGCACCTATCGTCACCACTCCAGTGACAACAAGAGGTGGAGGAA
GAAGATCATAGAGAAGCAGCCGCAGAGCCCCAAAGCCCCTGCCCTCAGCCGC
CCCCATCCTCAAAGTCTTCAACCGGCCTATCCTCTTTGACATCGTGTCCCGGG
30 GCTCCACTGCTGACCTGGACGGGCTGCTCCCATTCTTGCTGACCCACAAGAAAC
GCCTAACTGATGAGGAGTTTCGAGAGCCATCTACGGGGAAGACCTGCCTGCCC
AAGGCCTTGCTGAACCTGAGCAATGGCCGCAACGACACCATCCCTGTGCTGCTG

GACATCGCGGAGCGCACCGGCAACATGCGGGAGTTCATTAACCTCGCCCTTCCGT
GACATCTACTATCGAGGTCAGACAGCCCTGCACATCGCCATTGAGCGTCGCTGC
AAACACTACGTGGAACCTTCTCGTGGCCCAGGGAGCTGATGTCCA&GCCCAGGCC
CGTGGGCGCTTCTTCCAGCCCAAGGATGAGGGGGGCTACTTCTACTTTGGGGA
5 GCTGCCCCTGTCGCTGGCTGCCTGCACCAACCAGCCCCACATTGTCAACTACCT
GACGGAGAACCCCCACAAGAAGGCGGACATGCGGCGCCAGGACTCGCGAGGC
AACACAGTGCTGCATGCGCTGGTGGCCATTGCTGACAACACCCGTGAGAACAC
CAAGTTTGTACCAAGATGTACGACCTGCTGCTGCTCAAGTGTGCCCCGCTCTT
CCCCGACAGCAACCTGGAGGCCGTGCTCAACAACGACGGCCTCTCGCCCCTCAT
10 GATGGCTGCCAAGACGGGCAAGATTGGGATCTTTCAGCACATCATCCGGCGGG
AGGTGACGGATGAGGACACACGGCACCTGTCCCGCAAGTTCAAGGACTGGGCC
TATGGGCCAGTGTATTCCTCGCTTTATGACCTCTCCTCCCTGGACACGTGTGGG
GAAGAGGCCTCCGTGCTGGAGATCCTGGTGTACAACAGCAAGATTGAGAACCG
CCACGAGATGCTGGCTGTGGAGCCCATCAATGAACTGCTGCGGGACAAGTGGC
15 GCAAGTTCGGGGCCGTCTCCTTCTACATCAACGTGGTCTCCTACCTGTGTGCCA
TGGTCATCTTCACTCTCACCGCCTACTACCAGCCGCTGGAGGGGCACACCGCCGT
ACCCTTACCGCAACCACGGTGGACTACCTGCGGCTGGCTGGCGAGGTCATTACGC
TCTTCACTGGGGTCTCTTCTTCTTACCAACATCAAAGACTTGTTTCATGAAGA
AATGCCCTGGAGTGAATTCTCTCTTCATTGATGGCTCCTTCCAGCTGCTCTACTT
20 CATCTACTCTGTCCTGGTGATCGTCTCAGCAGCCCTCTACCTGGCAGGGATCGA
GGCCTACCTGGCCGTGATGGTCTTTGCCCTGGTCCTGGGCTGGATGAATGCCCT
TACTTCAACCGTGGGCTGAAGCTGACGGGGACCTATAGCATCATGATCCAGAA
GATTCTCTTCAAGGACCTTTTCCGATTCTGCTCGTCTACTTGCTCTTCATGATC
GGCTACGCTTCAGCCCTGGTCTCCCTCCTGAACCCGTGTGCCAACATGAAGGTG
25 TGCAATGAGGACCAGACCAACTGCACAGTGCCCACTTACCCCTCGTGCCGTGAC
AGCGAGACCTTCAGCACCTTCCTCCTGGACCTGTTTAAGCTGACCATCGGCATG
GGCGACCTGGAGATGCTGAGCAGCACCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCATCCTG
CTGGTGACCTACATCATCCTCACCTTTGTGCTGCTCCTCAACATGCTCATTGCC
TCATGGGCGAGACAGTGGGCCAGGTCTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAG
30 CTGCAGTGGGCCACCACCATCCTGGACATTGAGCGCTCCTTCCCCGTATTCTG
AGGAAGGCCTTCCGCTCTGGGGAGATGGTACCCGTGGGCAAGAGCTCGGACGG
CACTCCTGACCGCAGGTGGTGCTTCAGGGTGGATGAGGTGAACTGGTCTCACTG

GAACCAGAACTTGGGCATCATCAACGAGGACCCGGGCAAGAATGAGACCTACC
AGTATTATGGCTTCTCGCATACCGTGGGCCGCCTCCGCAGGGATCGCTGGTCCT
CGGTGGTACCCCGCGTGGTGGAACTGAACAAGAACTCGAACCCGGACGAGGTG
GTGGTGCCTCTGGACAGCATGGGGAACCCCGCTGCGATGGCCACCAGCAGGG
5 TTACCCCGCAAGTGGAGGACTGAGGACGCCCCGCTCTAG

hat. Die oben dargestellten Sequenz ist erfindungsgemäß die humane OTRPC4 cDNS Sequenz.

Weiterhin bevorzugt ist eine Nukleinsäure, die dadurch gekennzeichnet ist, daß sie die Sequenz

10 GGCCACGCGTCGACTAGTACGGGGGGGGGGGGGGGGGGTGGCRGSRGGAKCAG
GACTCGGCCGGAGGGATCAGGAAGCGGCGGCGCTGCGCCCGCGTCCTGAGGCT
GAGAAGTACAAACAGATCTGGGTCCAGTATGGCAGATCCTGGTGATGGTCCCC
GTGCAGCGCCTGGGGAGGTGGCTGAGCCCCCTGGAGATGAGAGTGGTACCTCT
GGTGGGGAGGCCTTCCCCCTCTCTTCCCTGGCCAATCTGTTTGAGGGGGAGGAA
15 GGCTCCTCTTCTCTTCCCCGGTGGATGCTAGCCGCCCTGCTGGCCCTGGCGAT
GGACGTCCAAACCTGCGTATGAAGTTCAGGGCGCTTTCGCAAGGGGGTTCCC
AACCCCATTGACCTGTTGGAGTCCACCCGGTACGAGTCCTCAGTAGTGCCTGGG
CCCAAGAAAGCGCCCATGGATTCTTGTTCGACTACGGCACTTACCGTCACCAC
CCCAGTGACAACAAGAGATGGAGGAGAAAGGTCGTGGAGAAGCAGCCACAGA
20 GCCCCAAAGCTCCTGCACCCCAGCCACCCCCCATCCTCAAAGTCTTCAATCGGC
CCATCCTCTTTGACATTGTGTCCCGGGGCTCCACTGCGGACCTAGATGGACTGC
TCTCCTTCTTGTGACCCACAAGAAGCGCCTGACTGATGAGGAGTTCCGGGAGC
CGTCCACGGGGAAGACCTGCCTGCCCAAGGCGCTGCTGAACCTAAGCAACGGG
CGCAACGACACCATCCCGGTGTTGCTGGACATTGCGGAGCGCACCGGCAACAT
25 GCGTGAATTCATCAACTCGCCCTTCAGAGACATCTACTACCGAGGCCAGACATC
CCTGCACATTGCCATCGAACGGCGCTGCAAGCACTACGTGGAGCTGCTGGTGG
CCCAGGGAGCCGACGTGCACGCCAGGCCCGCGGCCGCTTCTTCCAGCCCAAG
GATGAGGGAGGCTACTTCTACTTTGGGGAGCTGCCCTTGTCCCTGGCAGCCTGC
ACCAACCAGCCGCACATCGTCAACTACCTGACAGAGAACCCTCACAAGAAAGC
30 TGACATGAGGCGACAGGACTCGAGGGGGAACACGGTGCTGCACGCGCTGGTGG
CCATCGCCGACAACACCCGAGAGAACACCAAGTTTGTACCAAGATGTACGAC
CTGCTGCTTCTCAAGTGTTACGCCTCTTCCCCGACAGCAACCTGGAGACAGTT

CTCAACAATGATGGCCTTTCGCCTCTCATGATGGCTGCCAAGACAGGCAAGATC
GGGGTCTTTCAGCACATCATCCGACGTGAGGTGACAGATGAGGACACCCGGCA
TCTGTCTCGCAAGTTCAAGGACTGGGCCTATGGGCCTGTGTATTCTTCTCTCTA
CGACCTCTCCTCCCTGGACACATGCGGGGAGGAGGTGTCCGTGCTGGAGATCCT
5 GGTGTACAACAGCAAGATCGAGAACCGCCATGAGATGCTGGCTGTAGAGCCCA
TTAACGAACTGTTGAGAGACAAGTGGCGTAAGTTTGGGGCTGTGTCCTTCTACA
TCAACGTGGTCTCCTATCTGTGTGCCATGGTCATCTTCACCCTCACCGCCTACTA
TCAGCCACTGGAGGGCAGCCACCCTACCCTTACCGGACCACAGTGGACTACCT
GAGGCTGGCTGGCGAGGTCATCACGCTCTTCACAGGAGTCCTGTTCTTCTTTAC
10 CAGTATCAAAGACTTGTTACGAAGAAATGCCCTGGAGTGAATTCTCTCTTCGT
CGATGGCTCCTTCCAGTTACTCTACTTCATCTACTCTGTGCTGGTGGTTGTCTCT
GCGGCGCTCTACCTGGCTGGGATCGAGGCCTACCTGGCTGTGATGGTCTTTGCC
CTGGTCCTGGGCTGGATGAATGCGCTGTACTTCACGCGCGGGTTGAAGCTGAC
GGGGACCTACAGCATCATGATTCAGAAGATCCTCTTCAAAGACCTCTTCCGCTT
15 CCTGCTTGTGTACCTGCTCTTCATGATCGGCTATGCCTCAGCCCTGGTCACCCTC
CTGAATCCGTGCACCAACATGAAGGTCTGTGACGAGGACCAGAGCAACTGCAC
GGTGCCACGTATCCTGCGTGCCGCGACAGCGAGACCTTCAGCGCCTTCCTCCT
GGACCTCTTCAAGCTCACCATCGGCATGGGAGACCTGGAGATGCTGAGCAGCG
CCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCCTCCTGCTGGTCACCTACATCATCCTCACCTT
20 CGTGCTCCTGTTGAACATGCTTATCGCCCTCATGGGTGAGACCGTGGGCCAGGT
GTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAGTTGCAGTGGGCCACCACCATCCTGG
ACATCGAGCGTTCCTTCCCTGTGTTCTGAGGAAGGCCTTCCGCTCCGGAGAGA
TGGTGACTGTGGGCAAGAGCTCAGATGGCACTCCGGACCGCAGGTGGTGCTTC
AGGGTGGACGAGGTGAACTGGTCTCACTGGAACCAGAACTTGGGCATCATTA
25 CGAGGACCCTGGCAAGAGTGAAATCTACCAGTACTATGGCTTCTCCCACACCGT
GGGGCGCCTTCGTAGGGATCGTTGGTCCTCGGTGGTGCCCCGCGTAGTGGAGC
TGAACAAGAACTCAAGCGCAGATGAAGTGGTGGTACCCCTGGATAACCTAGGG
AACCCCAACTGTGACGGCCACCAGCAGGGCTACGCTCCCAAGTGGAGGACGGA
CGATGCCCCACTGTAGGGGCGGTGCCAGAGCTCGCACAGATAGTCCAGGCTTG
30 GCCTTCGCTCCCACCTACATTTAGGCATTTGTCCGGTGTCTTCCCACACCCGCAT
GGGACCTTGGAGGTGAGGGCCTCTGTGGCGACTCTGTGGAGGCCCCAGGACCC
TCTGGTCCCCGCCAAGACTTTTGCCTTCAGCTCTACTCCCCACATGGGGGGGGCG

GGGCTCCTGGCTACCTGTCTCGCTCGCTCCCATGGAGTCACCTAAGCCAGCACA
AGGCCCCCTCTCCTCGAAAGGCTCAGGCCCCATCCCTCTTGTGTATTATTTATTGC
TCTCCTCAGGAAAATGGGGTGGCAGGAGTCCACCCGCGGCTGGAACCTGGCCA
GGGCTGAAGCTCATGCAGGGACGCTGCAGCTCCGACCTGCCACAGATCTGACC
5 TGCTGCAGCCCTGGCTAGTGTGGGTCTTCTGTACTTTGAAGAGATCGGGGCCGC
TGGTGCTCAATAAATGTTTATTCTCGGTGGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AA
AA

oder eine Teilsequenz hiervon, eine Nukleinsäure, die an besagte Sequenz unter stringenten
10 Bedingungen hybridisieren kann, eine allele Variante oder eine funktionelle Variante von
besagter Sequenz oder eine Variante der Nukleinsäure aufgrund des degenerativen Kodes
umfaßt, worin R ein A oder G, M ein A oder C, S ein C oder G, Y ein C oder T, K ein G
oder T und W ein A oder T sein kann. Erfindungsgemäß ist mit der oben dargestellten
Sequenz die murine OTRPC4 DNS Sequenz mit 5' und 3'-untranslatierten Sequenzen
15 umfaßt.

Weiterhin bevorzugt ist eine Nukleinsäure, die dadurch gekennzeichnet ist, daß sie die
Sequenz

GGCCACGCGTCGACTAGTACGGGGGGGGGGGGGGGGGGTGGCRGSRGGAKCAG
GACTCGGCCGGAGGGATCAGGAAGCGGCGGCGCTGCGCCCGCGTCCTGAGGCT
20 GAGAAGTACAAACAGATCTGGGTCCAGTATGGCAGATCCTGGTGATGGTCCCC
GTGCAGCGCCTGGGGAGGTGGCTGAGCCCCCTGGAGATGAGAGTGGTACCTCT
GGTGGGGAGGCCTTCCCCCTCTCTTCCCTGGCCAATCTGTTTGAGGGGGAGGAA
GGCTCCTCTTCTCTTTCCCCGGTGGATGCTAGCCGCCCTGCTGGCCCTGGCGAT
GGACGTCCAAACCTGCGTATGAAGTTCCAGGGCGCTTCCGCAAGGGGGTTCCC
25 AACCCCATTTGACCTGTTGGAGTCCACCCGGTACGAGTCCTCAGTAGTGCCTGGG
CCCAAGAAAGCGCCCATGGATTCCTTGTTGACTACGGCACTTACCGTCACCAC
CCCAGTGACAACAAGAGATGGAGGAGAAAGGTCGTGGAGAAGCAGCCACAGA
GCCCCAAAGCTCCTGCACCCCAGCCACCCCCCATCTCAAAGTCTTCAATCGGC
CCATCCTCTTTGACATTGTGTCCCGGGGCTCCACTGCGGACCTAGATGGACTGC
30 TCTCCTTCTTGTTGACCCACAAGAAGCGCCTGACTGATGAGGAGTTCCGGGAGC
CGTCCACGGGGAAGACCTGCCTGCCCAAGGCGCTGCTGAACCTAAGCAACGGG
CGCAACGACACCATCCCGGTGTTGCTGGACATTGCGGAGCGCACCGGCAACAT

GCGTGAATTCATCAACTCGCCCTTCAGAGACATCTACTACCGAGGCCAGACATC
CCTGCACATTGCCATCGAACGGCGCTGCAAGCACTACGTGGAGCTGCTGGTGG
CCCAGGGAGCCGACGTGCACGCCCAGGCCCGCGGCCGCTTCTTCCAGCCCAAG
GATGAGGGAGGCTACTTCTACTTTGGGGAGCTGCCCTTGTCCTTGGCAGCCTGC
5 ACCAACCAGCCGCACATCGTCAACTACCTGACAGAGAACCCTCACAAGAAAGC
TGACATGAGGCGACAGGACTCGAGGGGGAACACGGTGCTGCACGCGCTGGTGG
CCATCGCCGACAACACCCGAGAGAACACCAAGTTTGTACCAAGATGTACGAC
CTGCTGCTTCTCAAGTGTTACGCCTCTTCCCCGACAGCAACCTGGAGACAGTT
CTCAACAATGATGGCCTTTCGCCTCTCATGATGGCTGCCAAGACAGGCAAGATC
10 GGGGTCTTTCAGCACATCATCCGACGTGAGGTGACAGATGAGGACACCCGGCA
TCTGTCTCGCAAGTTCAAGGACTGGGCCTATGGGCCTGTGTATTCTTCTCTCTA
CGACCTCTCCTCCCTGGACACATGCGGGGAGGAGGTGTCCGTGCTGGAGATCCT
GGTGTACAACAGCAAGATCGAGAACCGCCATGAGATGCTGGCTGTAGAGCCCA
TTAACGAACTGTTGAGAGACAAGTGGCGTAAGTTTGGGGCTGTGTCCTTCTACA
15 TCAACGTGGTCTCCTATCTGTGTGCCATGGTCATCTTCACCCTCACCGCCTACTA
TCAGCCACTGGAGGGCACGCCACCCTACCCTTACCGGACCACAGTGGACTACCT
GAGGCTGGCTGGCGAGGTCATCACGCTCTTCACAGGAGTCCTGTTCTTCTTTAC
CAGTATCAAAGACTTGTTACGAAGAAATGCCCTGGAGTGAATTCTCTCTTCGT
CGATGGCTCCTTCCAGTTACTCTACTTCATCTACTCTGTGCTGGTGGTTGTCTCT
20 GCGGCGCTCTACCTGGCTGGGATCGAGGCCTACCTGGCTGTGATGGTCTTTGCC
CTGGTCCTGGGCTGGATGAATGCGCTGTACTTCACGCGCGGGTTGAAGCTGAC
GGGGACCTACAGCATCATGATTAGAAGATCCTCTTCAAAGACCTCTTCCGCTT
CCTGCTTGTGTACCTGCTCTTCATGATCGGCTATGCCTCAGCCCTGGTCACCCTC
CTGAATCCGTGCACCAACATGAAGGTCTGTGACGAGGACCAGAGCAACTGCAC
25 GGTGCCCACGTATCCTGCGTGCCGCGACAGCGAGACCTTCAGCGCCTTCCTCCT
GGACCTCTTCAAGCTCACCATCGGCATGGGAGACCTGGAGATGCTGAGCAGCG
CCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCCTCCTGCTGGTCACCTACATCATCCTCACCTT
CGTGCTCCTGTTGAACATGCTTATCGCCCTCATGGGTGAGACCGTGGGCCAGGT
GTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAGTTGCAGTGGGCCACCACCATCCTGG
30 ACATCGAGCGTTCCTTCCCTGTGTTCTGAGGAAGGCCTTCCGCTCCGGAGAGA
TGGTGA CTGTGGGCAAGAGCTCAGATGGCACTCCGGACCGCAGGTGGTGTCTC
AGGGTGGACGAGGTGAACTGGTCTCACTGGAACCAGAACTTGGGCATCA'TTAA

CGAGGACCCTGGCAAGAGTGAAATCTACCAGTACTATGGCTTCTCCACACCGT
GGGGCGCCTTCGTAGGGATCGTTGGTCCTCGGTGGTGCCCCGCGTAGTGGAGC
TGAACAAGAACTCAAGCGCAGATGAAGTGGTGGTACCCCTGGATAACCTAGGG
AACCCCAACTGTGACGGCCACCAGCAGGGCTACGCTCCCAAGTGGAGGACGGA
5 CGATGCCCCACTGTAGGGGGCCGTGCCAGAGCTCGCACAGATAGTCCAGGCTTG
GCCTTCGCTCCACCTACATTTAGGCATTTGTCCGGTGTCTTCCCACACCCGCAT
GGGACCTTGAGAGGTGAGGGCCTCTGTGGCGACTCTGTGGAGGCCCCAGGACCC
TCTGGTCCCCGCCAAGACTTTTGCCTTCAGCTCTACTCCCCACATGGGGGGGCG
GGGCTCCTGGCTACCTGTCTCGCTCGCTCCCATGGAGTCACCTAAGCCAGCACA
10 AGGCCCCCTCTCCTCGAAAGGCTCAGGCCCCATCCCTCTTGTGTATTATTTATTGC
TCTCCTCAGGAAAATGGGGTGGCAGGAGTCCACCCGCGGCTGGAACCTGGCCA
GGGCTGAAGCTCATGCAGGGACGCTGCAGCTCCGACCTGCCACAGATCTGACC
TGCTGCAGCCCTGGCTAGTGTGGGTCTTCTGTACTTTGAAGAGATCGGGGCCGC
TGGTGCTCAATAAATGTTTATTCTCGGTGGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
15 AA
AA

hat, worin R ein A oder G, M ein A oder C, S ein C oder G, Y ein C oder T, K ein G oder T und W ein A oder T sein kann. Die oben dargestellten Sequenz ist erfindungsgemäß die murine OTRPC4 DNS Sequenz mit 5' und 3'-untranslatierten Sequenzen.

20 Weiterhin bevorzugt ist eine Nukleinsäure, die dadurch gekennzeichnet ist, daß sie die Sequenz

ATGGCAGATCCTGGTGATGGTCCCCGTGCAGCGCCTGGGGAGGTGGCTGAGCC
CCCTGGAGATGAGAGTGGTACCTCTGGTGGGGAGGCCTTCCCCCTCTCTTCCCT
GGCCAATCTGTTTGAGGGGGAGGAAGGCTCCTCTTCTTTCCCCGGTGGATGC
25 TAGCCGCCCTGCTGGCCCTGGCGATGGACGTCCAAACCTGCGTATGAAGTTCCA
GGGCGCTTTCCGCAAGGGGGTTCCCAACCCCATGACCTGTTGGAGTCCACCCG
GTACGAGTCCTCAGTAGTGCCTGGGCCCAAGAAAGCGCCCATGGATTCTTGTT
CGACTACGGCACTTACCGTCACCACCCAGTGACAACAAGAGATGGAGGAGAA
AGGTCGTGGAGAAGCAGCCACAGAGCCCCAAAGCTCCTGCACCCAGCCACCC
30 CCCATCCTCAAAGTCTTCAATCGGCCCATCCTCTTTGACATTGTGTCCCGGGGCT
CCACTGCGGACCTAGATGGACTGCTCTCCTTCTTGTTGACCCACAAGAAGCGCC
TGACTGATGAGGAGTTCCGGGAGCCGTCCACGGGGAAGACCTGCCTGCCCAAG

GCGCTGCTGAACCTAAGCAACGGGCGCAACGACACCATCCCGGTGTTGCTGGA
CATTGCGGAGCGCACCGGCAACATGCGTGAATTCATCAACTCGCCCTTCAGAGA
CATCTACTACCGAGGCCAGACATCCCTGCACATTGCCATCGAACGGGCGCTGCAA
GCACTACGTGGAGCTGCTGGTGGCCAGGGAGCCGACGTGCACGCCAGGCC
5 GCGGCCGCTTCTTCCAGCCCAAGGATGAGGGAGGCTACTTCTACTTTGGGGAGC
TGCCCTTGTCCCTGGCAGCCTGCACCAACCAGCCGCACATCGTCAACTACCTGA
CAGAGAACCCTCACAAGAAAGCTGACATGAGGCGACAGGACTCGAGGGGGAAC
ACGGTGCTGCACGCGCTGGTGGCCATCGCCGACAACACCCGAGAGAACACCAA
GTTTGTACCAAGATGTACGACCTGCTGCTTCTCAAGTGTTACGCCTCTTCCCC
10 GACAGCAACCTGGAGACAGTTCTCAACAATGATGGCCTTTCGCCTCTCATGATG
GCTGCCAAGACAGGCAAGATCGGGGTCTTTCAGCACATCATCCGACGTGAGGT
GACAGATGAGGACACCCGGCATCTGTCTCGCAAGTTCAAGGACTGGGCCTATG
GGCCTGTGTATTCTTCTCTCTACGACCTCTCCTCCCTGGACACATGCGGGGAGG
AGGTGTCCGTGCTGGAGATCCTGGTGTACAACAGCAAGATCGAGAACCGCCAT
15 GAGATGCTGGCTGTAGAGCCCATTAACGAACTGTTGAGAGACAAGTGGCGTAA
GTTTGGGGCTGTGTCCTTCTACATCAACGTGGTCTCCTATCTGTGTGCCATGGT
CATCTTCACCCTCACCGCCTACTATCAGCCACTGGAGGGCACGCCACCCTACCC
TTACCGGACCACAGTGGACTACCTGAGGCTGGCTGGCGAGGTCATCACGCTCTT
CACAGGAGTCCTGTTCTTCTTTACCAGTATCAAAGACTTGTTACGAAGAAATG
20 CCCTGGAGTGAATTCTCTCTTCGTCGATGGCTCCTTCCAGTTACTCTACTTCATC
TACTCTGTGCTGGTGGTTGTCTCTGCGGCGCTCTACCTGGCTGGGATCGAGGCC
TACCTGGCTGTGATGGTCTTTGCCCTGGTCTGGGCTGGATGAATGCGCTGTAC
TTCACGCGCGGGTTGAAGCTGACGGGGACCTACAGCATCATGATTCAGAAGAT
CCTCTTCAAAGACCTCTTCCGCTTCTGCTTGTGTACCTGCTCTTCATGATCGGC
25 TATGCCTCAGCCCTGGTCACCCTCCTGAATCCGTGCACCAACATGAAGGTCTGT
GACGAGGACCAGAGCAACTGCACGGTGCCACGTATCCTGCGTGCCGCGACAG
CGAGACCTTCAGCGCCTTCTCCTGGACCTCTTCAAGCTCACCATCGGCATGGG
AGACCTGGAGATGCTGAGCAGCGCCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCCTCCTGCT
GGTCACCTACATCATCCTCACCTTCGTGCTCCTGTTGAACATGCTTATCGCCCTC
30 ATGGGTGAGACCGTGGGCCAGGTGTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAGTT
GCAGTGGGCCACCACCATCCTGGACATCGAGCGTTCCTTCCCTGTGTTCTGAG
GAAGGCCTTCCGCTCCGGAGAGATGGTGACTGTGGGCAAGAGCTCAGATGGCA

CTCCGGACCGCAGGTGGTGGCTTCAGGGTGGACGAGGTGAACTGGTCTCACTGG
AACCAGAACTTGGGCATCATTAACGAGGACCCTGGCAAGAGTGAAATCTACCA
GTACTATGGCTTCTCCACACCGTGGGGCGCCTTCGTAGGGATCGTTGGTCCTC
GGTGGTGCCCCGCGTAGTGGAGCTGAACAAGAACTCAAGCGCAGATGAAGTGG
5 TGGTACCCCTGGATAACCTAGGGAACCCCAACTGTGACGGCCACCAGCAGGGC
TACGCTCCCAAGTGGAGGACGGACGATGCCCCACTGTAG

oder eine Teilsequenz hiervon, eine Nukleinsäure, die an besagte Sequenz unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann, eine allele Variante oder eine funktionelle Variante von besagter Sequenz oder eine Variante der Nukleinsäure aufgrund des degenerativen Kodes
10 umfaßt. Erfindungsgemäß ist mit der oben dargestellten Sequenz die murine OTRPC4 cDNS Sequenz umfaßt.

Weiterhin bevorzugt ist eine Nukleinsäure, die dadurch gekennzeichnet ist, daß sie die Sequenz

ATGGCAGATCCTGGTGATGGTCCCCGTGCAGCGCCTGGGGAGGTGGCTGAGCC
15 CCCTGGAGATGAGAGTGGTACCTCTGGTGGGGAGGCCTTCCCCCTCTCTTCCCT
GGCCAATCTGTTTGAGGGGGAGGAAGGCTCCTCTTCTCTTCCCCGGTGGATGC
TAGCCGCCCTGCTGGCCCTGGCGATGGACGTCCAAACCTGCGTATGAAGTTCCA
GGGCGCTTTCCGCAAGGGGGTTCCCAACCCCATTGACCTGTTGGAGTCCACCCG
GTACGAGTCCTCAGTAGTGCCTGGGCCCAAGAAAGCGCCCATGGATTCCCTTGTT
20 CGACTACGGCACTTACCGTCACCACCCCAGTGACAACAAGAGATGGAGGAGAA
AGGTCGTGGAGAAGCAGCCACAGAGCCCCAAAGCTCCTGCACCCCAGCCACCC
CCCATCCTCAAAGTCTTCAATCGGCCCATCCTCTTTGACATTGTGTCCCGGGGCT
CCACTGCGGACCTAGATGGACTGCTCTCCTTCTTGTTGACCCACAAGAAGCGCC
TGA CTGATGAGGAGTTCCGGGAGCCGTCCACGGGGAAGACCTGCCTGCCCAAG
25 GCGCTGCTGAACCTAAGCAACGGGCGCAACGACACCATCCCGGTGTTGCTGGA
CATTGCGGAGCGCACCGGCAACATGCGTGAATTCATCAACTCGCCCTTCAGAGA
CATCTACTACCGAGGCCAGACATCCCTGCACATTGCCATCGAACGGCGCTGCAA
GCACTACGTGGAGCTGCTGGTGGCCAGGGAGCCGACGTGCACGCCCAGGCCC
GCGGCCGCTTCTTCCAGCCCAAGGATGAGGGAGGCTACTTCTACTTTGGGGAGC
30 TGCCCTTGTTCCCTGGCAGCCTGCACCAACCAGCCGCACATCGTCAACTACCTGA
CAGAGAACCCTCACAAGAAAGCTGACATGAGGCGACAGGACTCGAGGGGGAAC
ACGGTGCTGCACGCGCTGGTGGCCATCGCCGACAACACCCGAGAGAACACCAA

GTTTGTACCAAGATGTACGACCTGCTGCTTCTCAAGTGTTACGCCTCTTCCCC
GACAGCAACCTGGAGACAGTTCTCAACAATGATGGCCTTTCGCCTCTCATGATG
GCTGCCAAGACAGGCAAGATCGGGGTCTTTCAGCACATCATCCGACGTGAGGT
GACAGATGAGGACACCCGGCATCTGTCTCGCAAGTTCAAGGACTGGGCCTATG
5 GGCCTGTGTATTCTTCTCTCTACGACCTCTCCTCCCTGGACACATGCGGGGAGG
AGGTGTCCGTGCTGGAGATCCTGGTGTACAACAGCAAGATCGAGAACCGCCAT
GAGATGCTGGCTGTAGAGCCCATTAACGAAGTGTGAGAGACAAGTGGCGTAA
GTTTGGGGCTGTGTCCTTCTACATCAACGTGGTCTCCTATCTGTGTGCCATGGT
CATCTTCACCCTCACCGCCTACTATCAGCCACTGGAGGGCACGCCACCCTACCC
10 TTACCGGACCACAGTGGACTACCTGAGGCTGGCTGGCGAGGTCATCACGCTCTT
CACAGGAGTCCTGTTCTTCTTTACCAGTATCAAAGACTTGTTACGAAGAAATG
CCCTGGAGTGAATTCTCTCTTCGTCGATGGCTCCTTCCAGTTACTCTACTTCATC
TACTCTGTGCTGGTGGTTGTCTCTGCGGCGCTCTACCTGGCTGGGATCGAGGCC
TACCTGGCTGTGATGGTCTTTGCCCTGGTCCTGGGCTGGATGAATGCGCTGTAC
15 TTCACGCGCGGGTTGAAGCTGACGGGGACCTACAGCATCATGATTCAGAAGAT
CCTCTTCAAAGACCTCTTCCGCTTCCTGCTTGTGTACCTGCTCTTCATGATCGGC
TATGCCTCAGCCCTGGTCACCCTCCTGAATCCGTGCACCAACATGAAGGTCTGT
GACGAGGACCAGAGCAACTGCACGGTGCCACGTATCCTGCGTGCCGCGACAG
CGAGACCTTCAGCGCCTTCCTCCTGGACCTCTTCAAGCTCACCATCGGCATGGG
20 AGACCTGGAGATGCTGAGCAGCGCCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCCTCCTGCT
GGTCACCTACATCATCCTCACCTTCGTGCTCCTGTTGAACATGCTTATCGCCCTC
ATGGGTGAGACCGTGGGCCAGGTGTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAGTT
GCAGTGGGCCACCACCATCCTGGACATCGAGCGTTCCTTCCCTGTGTTCCCTGAG
GAAGGCCTTCCGCTCCGGAGAGATGGTGACTGTGGGCAAGAGCTCAGATGGCA
25 CTCCGGACCGCAGGTGGTGCTTCAGGGTGGACGAGGTGAACTGGTCTCACTGG
AACCAGAACTTGGGCATCATTAACGAGGACCCTGGCAAGAGTGAAATCTACCA
GTACTATGGCTTCTCCACACCGTGGGGCGCCTTCGTAGGGATCGTTGGTCCTC
GGTGGTGCCCCGCGTAGTGGAGCTGAACAAGAACTCAAGCGCAGATGAAGTGG
TGGTACCCCTGGATAACCTAGGGAACCCCAACTGTGACGGCCACCAGCAGGGC
30 TACGCTCCCAAGTGGAGGACGGACGATGCCCCACTGTAG

hat. Die oben dargestellten Sequenz ist erfindungsgemäß die murine OTRPC4 cDNS Sequenz.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist ein rekombinanter Vektor dadurch gekennzeichnet, daß er eine erfindungsgemäße Nukleinsäure, wie oben beschrieben, enthält. Beispiele für erfindungsgemäße Vektoren sind virale Vektoren wie z. B. Vaccinia, Semliki-Forest-Virus und Adenovirus. Vektoren zur Verwendung in COS-Zellen besitzen den Simian Virus (SV) 40 „origin of replication“ und ermöglichen hohe Kopienzahlen der Plasmide. Vektoren zur Verwendung in Insektenzellen sind beispielsweise *E. coli* Transfervektoren und enthalten z.B. als Promotor die für Polyhedrin kodierende DNA.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist ein erfindungsgemäßer rekombinanter Vektor dadurch gekennzeichnet, daß er ein Expressionsvektor ist.

Noch eine bevorzugte Ausführungsform der Erfindung ist ein Wirt, dadurch gekennzeichnet, daß er einen erfindungsgemäßen Vektor enthält. Ein erfindungsgemäßer Wirt exprimiert ein erfindungsgemäßes OTRPC4 Polypeptid beispielsweise an der Zelloberfläche, z.B. in die Plasmamembran integriert. Die erfindungsgemäßen Wirte können transient oder stabil mit einem der besagten Vektoren transfiziert sein. Ein solcher Wirt ist exemplarisch in Beispiel 1, Abbildung 4 der Erfindung beschrieben.

Noch eine bevorzugte Ausführungsform der Erfindung ist ein erfindungsgemäßer Wirt, welcher eine eukaryontische Wirtszelle ist. Erfindungsgemäße eukaryontische Wirtszellen umfassen Pilze, wie z. B. *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces*, *Trichoderma*. Ein weiterer bevorzugter erfindungsgemäßer Wirt ist eine Insektenzelle (z.B. aus *Spodoptera frugiperda* Sf-9, mit einem Baculovirus-Expressionssystem). Erfindungsgemäße Zellen umfassen auch Oozyten, beispielsweise von Fröschen oder Kröten. Erfindungsgemäße Wirte können auch Pflanzenzellen sein, z.B. von *Nicotiana tabacum*. In Säugerzellen und -zelllinien werden die erfindungsgemäßen OTRPC4-Polypeptide besonders gut exprimiert. Daher ist ein bevorzugter erfindungsgemäßer Wirt eine Säugerzelle. Beispiele für erfindungsgemäße Säugerzellen sind HEK293-, HeLa-, COS-, BHK-, CHO-Zellen.

Ganz besonders bevorzugt ist ein erfindungsgemäßer Wirt daher eine Sf9-, HEK293- oder HeLa- Zelle.

Bevorzugt ist ein erfindungsgemäßer Wirt ein Bakteriophage. Beispielhaft sei Baculovirus genannt.

Ein weiterer erfindungsgemäßer Wirt ist eine prokaryontische Wirtszelle. Beispiele für erfindungsgemäße prokaryontische Wirtszellen sind *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Streptomyces* oder auch *Proteus mirabilis*.

Ein weiterer wichtiger Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf ein Polypeptid,
5 das durch eine erfindungsgemäße Nukleinsäure kodiert wird oder ein Fragment, eine funktionelle Variante, eine allele Variante, eine Untereinheit, eine Variante aufgrund des degenerativen Nukleinsäure-Kodes oder eine Glykosilierungsvariante hiervon. Im Rahmen dieser Erfindung wird unter OTRPC4-Polypeptid oder Fragment hiervon eines oder mehrere der hier beschriebenen Polypeptid(e) verstanden, d.h. ein Polypeptid ausgewählt
10 aus Fragmenten, allelen Varianten, funktionelle Untereinheiten, Varianten aufgrund des degenerativen Nukleinsäure-Kodes, ein chemisches Derivat hiervon, ein Fusionsprotein mit besagtem Polypeptid oder eine Glykosilierungsvariante von OTRPC4. Erfindungsgemäße OTRPC4-Polypeptide sind bevorzugt eukaryontische Polypeptide, besonders bevorzugt humane oder murine, aber auch aus der Ratte, Hamster, Ziegen, Rinder, Schweine, Schafe,
15 Hund, Katze, Affen sowie aus weiteren dem Fachmann bekannte Eukaryonten. OTRPC4 im Rahmen dieser Erfindung ist ein neuer Kationenkanal, der gegenüber den aus dem Stand der Technik bekannten Kationenkanälen die vorteilhafte Eigenschaft aufweist, daß er durch Veränderungen der Osmolarität des extrazellulären Mediums reguliert wird. Er stellt daher eine gegenüber aus dem Stand der Technik bekannten Kationenkanälen einen völlig neue
20 Generation von Kationenkanälen dar, die z.B. als Osmosensoren für die Regulation des Zellvolumens verantwortlich sind. Durch Erniedrigung der Osmolarität wird die Kanalaktivität stimuliert und und durch Erhöhung gehemmt. Z.B. ist der Kanal bei physiologischer Osmolarität von ca. 300 mosmol/l konstitutiv aktiv. Der Kanal ist nichtselektiv in seiner Ionenpermeabilität, d.h. durchgängig für alle Kationen (Na^+ , K^+ ,
25 Ca^{2+}) und zeigt z.B. eine gewisse Präferenz für Ca^{2+} ($P_{\text{Ca}}/P_{\text{Na}}$: ca. 6).

Noch ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf ein erfindungsgemäßes Polypeptid, welches ein Fragment des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 ist. Hierunter wird ein Teil des erfindungsgemäßen Polypeptides verstanden.

Noch ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf ein
30 erfindungsgemäßes Polypeptid, welches eine funktionelle Variante des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 ist. Hierunter werden Polypeptide verstanden, die weitgehend ähnlich wie OTRPC4 sind und die dieselbe biologische Aktivität wie OTRPC4 aufweisen

oder eine inhibitorische Aktivität für OTRPC4 haben. Eine Variante von OTRPC4 kann durch Substitution, Deletion oder Addition einer oder mehrerer Aminosäuren von OTRPC4 sich unterscheiden, bevorzugt durch 1 bis 10 Aminosäuren. Beispielsweise werden unter funktionelle Varianten weitere Vertreter der OTRPC4-Familie verstanden, die ebenfalls die
5 oben beschriebene vorteilhafte Eigenschaft der Regulierung der Kanalaktivität durch Osmolarität aufweisen.

Noch ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf ein erfindungsgemäßes Polypeptid, welches eine allele Variante des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 ist.

10 Noch ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf ein erfindungsgemäßes Polypeptid, welches eine Untereinheit des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 ist. Oft sind Ionenkanäle aus Untereinheiten zusammengesetzt, beispielsweise der AMPA-Rezeptor. Entsprechend werden von der Erfindung auch Untereinheiten des OTRPC4-Kationenkanals umfaßt.

15 Noch ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf ein erfindungsgemäßes Polypeptid, welches eine Variante des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 aufgrund des degenerativen Nukleinsäure-Kodes ist.

Noch ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf ein erfindungsgemäßes Polypeptid, welches ein chemisches Derivat des nicht-selektiven
20 Kationenkanals OTRPC4 ist. Hierunter werden Moleküle verstanden, die aus den erfindungsgemäßen OTRPC4 Polypeptiden durch chemische Reaktionen hergestellt werden, beispielsweise durch Iodinierung, Acetylierung, Bindung an ein Effektormolekül oder Radioisotop oder an ein Toxin.

Noch ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf ein
25 erfindungsgemäßes Polypeptid, welches ein Fusionsprotein aus dem nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 und einem weiteren Protein ist. Ein solches Fusionsprotein kann beispielsweise durch rekombinante Expression der erfindungsgemäßen OTRPC4 Nukleinsäure, die an eine weitere Nukleinsäure fusioniert ist, die sämtliche kodierende Information „in frame“ enthält, hergestellt werden. Dies kann beispielsweise ein
30 Markerprotein oder ein Reporterprotein wie GFP oder LacZ sein. Weitere Fusionspartner sind dem Fachmann bekannt.

Noch ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf ein erfindungsgemäßes Polypeptid, welches eine Glykosilierungsvariante des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 ist.

Die Erfindung umfaßt Verfahren zur Herstellung von erfindungsgemäßen Polypeptiden, dadurch gekennzeichnet, daß ein erfindungsgemäßer Wirt kultiviert wird und besagtes Polypeptid exprimiert wird. Besagte Wirte können z.B. stabil oder transient mit einem Vektor oder einem Expressionsvektor, der eine für ein OTRPC4-Polypeptid oder -Fragment kodierende Nukleinsäure enthält, transfiziert werden. Beispielsweise wird das erfindungsgemäße OTRPC4-Polypeptid oder -Fragment an der Zelloberfläche des Wirtes exprimiert. Besagtes Polypeptid kann aber auch in das Medium sezerniert werden. Die erfindungsgemäßen OTRPC4-Polypeptide oder -Fragmente können in einem erfindungsgemäßen Verfahren beispielsweise in Pilzen, wie z. B. *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces*, *Trichoderma* mit Vektoren, die zur Oberflächenexpression führen, hergestellt werden.

Auch mit Insektenzellen kann das erfindungsgemäße Verfahren zur Herstellung der OTRPC4-Polypeptides oder -Fragmentes durchgeführt werden, z. B. als transientes oder stabiles Expressionssystem oder Baculovirus-Expressionssystem. Hierbei werden z.B. Sf-9 Insektenzellen mit z.B. *Autographa californica nuclear polyhedrosis virus* (AcNPV) oder verwandten Viren infiziert. Die oben beschriebenen *E. coli* Transfervektoren enthalten z.B. als Promotor die für Polyhedrin kodierende DNA, hinter der die für das erfindungsgemäße OTRPC4-Polypeptid oder -Fragment kodierende DNA hineinkloniert wird. Nach Identifikation eines korrekten Transfervektorklones in *E. coli* wird dieser zusammen mit unvollständiger Baculovirus-DNA in eine Insektenzelle transfiziert und rekombiniert mit der Baculovirus-DNA, um funktionsfähige Baculoviren zu bilden. Mit Hilfe starker Insektenzellpromotoren werden in einem erfindungsgemäßen Verfahren große Mengen des erfindungsgemäßen OTRPC4-Polypeptides oder -Fragmentes gebildet. Insektenzellexpressionssysteme für die Expression von OTRPC4-Polypeptid oder -Fragment sind kommerziell erhältlich.

Auch ein Säugetierexpressionssystem, z.B. in einem erfindungsgemäßen Wirt, z.B. die HEK293-Zelle oder die Hela-Zelle, die beispielsweise in einem Expressionsvektor eine erfindungsgemäße Nukleinsäure kodierend für OTRPC4 oder ein Fragment hiervon enthält, kann zur Expression des OTRPC4-Kationenkanals verwendet werden, wobei der besagte

Wirt unter dem Fachmann bekannten Bedingungen kultiviert wird und das OTRPC4-Polypeptid oder -Fragment z.B. an der Zelloberfläche exprimiert wird. Vorteilhaft an Säugetierexpressionssystemen ist, daß sie sehr gute Glykosilierungs- und Faltungsbedingungen ermöglichen. Säugerzellen, sind mit transienten Expressionssystemen, stabilen Expressionssystemen und mit viralen Expressionssystemen z. B. Vaccinia, Semliki-Forest-Virus, Adenovirus verwendbar, die kommerziell erhältlich sind. Auch transgene Tiere z. B. Kühe, Ziegen, Mäuse sind geeignet für ein erfindungsgemäßes Verfahren. Auch transgene Pflanzen wie *Nicotiana tabacum* (Tabak) sind in einem erfindungsgemäßen Verfahren einsetzbar. Diese eignen sich insbesondere für die Herstellung von erfindungsgemäßen OTRPC4-Polypeptid oder -Fragment. Nach genomischer Integration der erfindungsgemäßen Nukleinsäure, welche für ein erfindungsgemäßes OTRPC4-Polypeptid oder -Fragment kodiert, die an eine Signalsequenz fusioniert ist, kann die Oberflächenexpression des OTRPC4-Polypeptides oder -Fragmentes oder die Sekretion in den interstitiellen Raum erreicht werden.

Die Herstellung mit prokaryontischen Expressionssystemen wie *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Streptomyces* oder auch *Proteus mirabilis* eignet sich bevorzugt für erfindungsgemäße OTRPC4-Fragmente, aber auch für das ganze OTRPC4-Polypeptid. Die erfindungsgemäßen OTRPC4-Polypeptide werden in einem erfindungsgemäßen Verfahren entweder bevorzugt an der Oberfläche, beispielsweise in die Außenhülle, d.h. eine der beiden bakteriellen Zellmembranen oder die Pyptidoglycanschicht der Außenhülle bei Gram-negativen Bakterien oder in die Zellmembran bei Gram-positiven Bakterien integriert, oder intrazellulär, z.B. in Inklusionskörpern oder durch periplasmatische Sekretion in Gram-negativen Bakterien mittels hierfür geeigneten Vektoren hergestellt.

Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf ein Antikörperprotein, dadurch gekennzeichnet, daß es spezifisch für ein erfindungsgemäßes Polypeptid ist. Daher bindet das erfindungsgemäße Antikörperprotein an ein Epitop von OTRPC4 oder an ein Epitop einer der oben beschriebenen Varianten.

Für viele Anwendungen der erfindungsgemäßen Antikörper sind möglichst kleine antigenbindende, d.h. OTRPC4-bindende Einheiten wünschenswert. Daher ist in einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ein erfindungsgemäßes Antikörperprotein ein Fab-Fragment (Englisch „Fragment antigen-binding = Fab“). Diese erfindungsgemäßen OTRPC4-spezifischen Antikörperproteine bestehen aus den variablen Regionen beider

Ketten, die durch die anschließende konstante Region zusammengehalten werden. Diese können durch Protease-Verdau wie z.B. mit Papain aus herkömmlichen Antikörpern entstehen, ähnliche Fab-Fragmente können jedoch auch mittlerweile gentechnologisch hergestellt werden. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist ein
5 erfindungsgemäßes Antikörperprotein ein $F(ab')_2$ Fragment, welches durch proteolytische Spaltung mit Pepsin hergestellt werden kann.

Mit Hilfe von gentechnischen Methoden ist es möglich, verkürzte Antikörperfragmente herzustellen, die nur noch aus den variablen Regionen der schweren (VH) und der leichten Kette (VL) bestehen. Diese werden als Fv-Fragmente (Englisch: „Fragment variable“ =
10 Fragment des variablen Teils) bezeichnet. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist ein erfindungsgemäßes, OTRPC4-spezifisches Antikörpermolekül ein solches Fv-Fragment. Da diesen Fv-Fragmenten die kovalente Verknüpfung beider Ketten durch die Cysteine der konstanten Ketten fehlt, werden die Fv-Fragmente oft stabilisiert. Vorteilhaft ist es, die variablen Regionen der schweren und der leichten Kette durch ein kurzes
15 Peptidstück, beispielsweise von 10 bis 30 Aminosäuren, bevorzugt 15 Aminosäuren, zu verknüpfen. Hierdurch wird ein einziger Peptidstrang aus VH und VL, verbunden durch einen Peptidlinker, erhalten. Ein solches Antikörperprotein wird als Fv-Einzelkette oder Englisch: „single-chain-Fv“ (scFv) bezeichnet. Beispiele aus dem Stand der Technik für solche scFv-Antikörperproteine sind in Huston et al. (1988, PNAS 16: 5879-5883)
20 beschrieben. Daher ist in noch einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ein erfindungsgemäßes, OTRPC4-spezifisches Antikörperprotein eine Fv-Einzelkettenprotein (scFv).

Es wurden in den letzten Jahren verschiedene Strategien entwickelt, um scFv als multimererivate herzustellen. Dies sollte insbesondere zu rekombinanten Antikörpern mit
25 verbesserten Pharmakokinetik- und Biodistributionseigenschaften sowie mit erhöhten Bindungsaviditäten führen. Um eine Multimerisierung der scFv zu erzielen, wurden scFv als Fusionproteine mit Multimerisierungsdomänen hergestellt. Als Multimerisierungsdomänen dienen z. B. die CH3-Region eines IgG oder *coiled coil*-Strukturen (Helix-Strukturen) wie *Leucin-zipper*-Domänen. Es gibt jedoch auch Strategien bei denen die Interaktion zwischen
30 den VH/VL-Regionen des scFv zur Multimerisierung herangezogen werden (z. B. Di-, Tri- und Pentabodies). Daher ist in einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ein erfindungsgemäßes Antikörperprotein ein für ein OTRPC4-Epitop spezifisches Diabody-

Antikörperfragment. Unter Diabody versteht der Fachmann ein bivalentes homodimeres scFv-Derivat (Hu et al., 1996, PNAS 16: 5879-5883). Die Verkürzung des *Linkers* in einem scFv-Molekül auf 5- 10 Aminosäuren führt zur Bildung von Homodimeren bei denen eine inter-Ketten VH/VL-Zusammenlagerung stattfindet. Diabodies können zusätzlich durch den
5 Einbau von Disulfidbrücken stabilisiert werden. Beispiele aus dem Stand der Technik für Diabody-Antikörperproteine finden sich bei Perisic et al. (1994, Structure 2: 1217-1226).

Unter Minibody versteht der Fachmann ein bivalentes, homodimeres scFv-Derivat. Es besteht aus einem Fusionsprotein, das die CH3-Region von einem Immunglobulin, bevorzugt IgG, ganz besonders bevorzugt IgG1 als Dimerisierungsregion enthält, die über
10 eine *Hinge*-Region (z.B. ebenfalls von IgG1) und eine *Linker*-Region mit dem scFv verbunden ist. Die Disulfidbrücken in der *Hinge*-Region werden meist in höheren Zellen und nicht in Prokaryonten ausgebildet. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist ein erfindungsgemäßes Antikörperprotein ein OTRPC4-spezifisches Minibody-Antikörperfragment. Beispiele aus dem Stand der Technik für Minibody-Antikörperproteine
15 finden sich bei Hu et al. (1996, Cancer Res. 56: 3055-61).

Unter Triabody versteht der Fachmann ein: trivalentes homotrimeres scFv-Derivat (Kortt et al. 1997 Protein Engineering 10: 423-433). ScFv-Derivate bei denen VH-VL direkt ohne Linkersequenz fusioniert sind, führen zur Ausbildung von Trimeren.

Unter Tetravalent Miniantibody versteht der Fachmann ein tetravalentes homodimeres scFv-Derivat (Pack et al., 1995 J. Mol. Biol. 246: 28-34). Die Multimerisierung erfolgt durch
20 tetramere *coiled coil*-Domäne.

Besonders bevorzugt ist ein erfindungsgemäßes Antikörperprotein vollständig human.

Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Herstellung von einem erfindungsgemäßen Antikörperprotein, welches die folgenden
25 Schritte umfaßt: ein Wirt ausgewählt aus einer eukaryontischen oder prokaryontischen Zelle, welcher einen oder mehrere Vektoren mit einer oder mehreren Nukleinsäuren spezifisch für das Antikörperprotein enthält, wird unter Bedingungen, unter denen besagtes Antikörperprotein durch besagte Wirtszelle exprimiert wird, kultiviert und besagtes Antikörperprotein wird isoliert.

30 Die erfindungsgemäßen Antikörperproteine können in einem erfindungsgemäßen Verfahren auch in Pilzen, wie z. B. *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces*, *Trichoderma* mit Vektoren, die zur intrazellulären Expression oder zur Sekretion führen,

hergestellt werden. Auch mit Insektenzellen kann das erfindungsgemäße Verfahren zur Herstellung der Antikörperproteine durchgeführt werden, z. B. als transientes oder stabiles Expressionssystem oder Baculovirus-Expressionssystem, vergleichbar wie oben beschrieben. Insektenzellexpressionssysteme für die Expression von Antikörperproteinen sind kommerziell erhältlich. Insektenzellexpressionssysteme eignen sich insbesondere für die erfindungsgemäßen scFv-Fragmente und Fab- bzw. F(ab')₂-Fragmente und Antikörperproteine bzw. Fragmente hiervon, welche mit Effektormolekülen fusioniert sind, aber auch für vollständige Antikörpermoleküle.

Vorteilhaft an Säugetierexpressionssystemen ist, daß sie sehr gute Glykosilierungs- und Faltungsbedingungen ermöglichen, z.B. transiente Expressionssysteme, z. B. in COS-Zellen oder stabile Expressionssysteme z. B. BHK-, CHO-, Myelomzellen. Säugerzellen sind auch z. B. mit viralen Expressionssystemen z. B. Vaccinia, Semliki-Forest-Virus, Adenovirus verwendbar. Auch transgene Tiere z. B. Kühe, Ziegen, Mäuse sind geeignet für ein erfindungsgemäßes Verfahren. Auch transgene Pflanzen wie *Nicotiana tabacum* (Tabak) sind in einem erfindungsgemäßen Verfahren einsetzbar. Nach genomischer Integration der erfindungsgemäßen Nukleinsäure, welche für ein erfindungsgemäßes Antikörperprotein kodiert, die an eine Signalsequenz fusioniert ist, kann die Sekretion des Antikörperproteins in den interstitiellen Raum erreicht werden. Die Herstellung mit prokaryontischen Expressionssystemen wie *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Streptomyces* oder auch *Proteus mirabilis* eignet sich bevorzugt für erfindungsgemäße Antikörperfragmente, wie Fab-, F(ab')₂-, scFv-Fragmente, Minibodies, Diabodies und Multimere besagter Fragmente. Die Erfindungsgemäßen Antikörperproteine werden in einem erfindungsgemäßen Verfahren entweder intrazellulär, z.B. in Inklusionskörpern oder durch periplasmatische Sekretion in Gram-negativen Bakterien mittels hierfür geeigneten Vektoren hergestellt.

Ebenfalls von der Erfindung umfaßt ist die Verwendung eines erfindungsgemäßen Polypeptides zum Auffinden von Blocker, Aktivatoren oder Modulatoren besagter Polypeptide.

Unter Blocker sind Substanzen zu verstehen, die durch Bindung an den OTRPC4-Kationenkanal selbst, durch Bindung an regulatorische Untereinheiten oder durch Interaktion mit der Zellmembran oder Teilen derselben die Ionenpermeabilität des Kanals hemmen.

Unter Aktivatoren sind Substanzen zu verstehen, die durch Bindung an den OTRPC4-Kationenkanal selbst, durch Bindung an regulatorische Untereinheiten oder durch Interaktion mit der Zellmembran oder Teilen derselben die Ionenpermeabilität des Kanals stimulieren.

5 Unter Modulatoren sind Substanzen zu verstehen, die durch Bindung an den OTRPC4-Kationenkanal selbst, durch Bindung an regulatorische Untereinheiten oder durch Interaktion mit der Zellmembran oder Teilen derselben die Ionenpermeabilität des Kanals verändern, z.B. die Selektivität des Kanals gegenüber von Kalzium und Natrium verändern. Blocker, Aktivatoren oder Modulatoren können ihre jeweilige pharmakologische
10 Eigenschaften entfalten abhängig von physikalischen Einflüssen, wie z.B. pH, Temperatur und Ionenkonzentrationen des intra- oder extrazellulären Mileus oder auch abhängig von dem Aktivierungszustand des Kanals.

Weiterhin von der Erfindung umfaßt ist die Verwendung eines erfindungsgemäßen Wirtes zum Auffinden von Blocker, Aktivatoren oder Modulatoren von OTRPC4-Kanälen.

15 Ein weiterer, bevorzugter Aspekt der Erfindung ist ein Verfahren zum Auffinden von Blocker, Aktivatoren oder Modulatoren von OTRPC4, dadurch gekennzeichnet, daß ein erfindungsgemäßer Wirt mit einer Testsubstanz inkubiert wird.

Ein weiterer, ganz besonders bevorzugter Aspekt der Erfindung ist ein erfindungsgemäßes Verfahren, dadurch gekennzeichnet, daß ein Membranstrom gemessen wird, besagter
20 Membranstrom mit einem Membranstrom verglichen wird, der bei besagtem Wirt nach Inkubation mit einer bekannten Kontrollsubstanz oder in Abwesenheit der Testsubstanz gemessen wird. Ein solches Verfahren ist exemplarisch in Beispiel 1, Abbildung 7 der Erfindung beschrieben.

Ein weiterer, ganz besonders bevorzugter Aspekt der Erfindung ist ein erfindungsgemäßes
25 Verfahren worin besagter Aktivator an einen Kanal gebunden ist, besagter Wirt mit einer Testsubstanz inkubiert wird und die Verdrängung des an den Kanal gebundenen Aktivator durch die Testsubstanz gemessen wird.

Ein weiterer, ganz besonders bevorzugter Aspekt der Erfindung ist ein erfindungsgemäßes Verfahren, worin ein erfindungsgemäßer Wirt mit einer Testsubstanz inkubiert wird, die
30 intrazelluläre Menge eines divalenten Kationes bestimmt wird und besagte Menge des divalenten Kationes mit der Menge besagten divalenten Kationes verglichen wird, die bei der Inkubation besagten Wirtes mit einer bekannten Kontrolle oder in der Abwesenheit der

Testsubstanz gemessen wird. Ein solches Verfahren ist exemplarisch in Beispiel 1 der Erfindung beschrieben.

Ein weiterer, ganz besonders bevorzugter Aspekt der Erfindung ist ein erfindungsgemäßes Verfahren, welches ein Hochdurchsatzmusterungstest (Englisch: „high throughput screening = HTS“) oder ein Ultrahochdurchsatzmusterungstest (Hochdurchsatzmusterungstest (Englisch: „ultra high throughput screening = UHTS“) ist. HTS bezieht sich im Rahmen der Erfindung auf ein experimentelles Verfahren, bei dem eine große Anzahl an Testsubstanzen gleichzeitig getestet werden. Vorzugsweise wird ein HTS-Verfahren in Mikrotiterplatten ausgeführt, teilweise oder vollständig automatisiert und an elektronische Geräte wie z.B. Computer zur Datenspeicherung, -Analyse und Interpretation mittels Bioinformatik angeschlossen. Bevorzugt werden zur Automatisierung Roboter eingesetzt, die eine große Anzahl von Mikrotiterplatten gleichzeitig handhaben können und mehrere tausend Tests pro Tag ausführen können. Vorzugsweise wird eine Testsubstanz auf eine erwünschte Aktivator-, Blocker- oder Modulatorfunktion in einem zellbasierten System mit einer erfindungsgemäßen Zelle getestet. Der Ausdruck HTS umfaßt auch Ultrahochdurchsatzmusterungstests (UHTS). Vorzugsweise werden besagte UHTS-Verfahren unter Verwendung von 384- oder 1536-Loch-Mikrotiterplatten, Submikroliter- und Subnanoliterpipettoren, verbesserten Plattenlesegeräten und Verfahren um Verdunstung zu verhindern, ausgeführt. HTS Verfahren sind beispielhaft in den Patenten US 5876946 A oder US 5902732 A beschrieben. Der Durchschnittsfachmann kann die oben und in den Beispielen beschriebenen Verfahren an ein HTS oder UHTS Format anpassen, ohne selbst erfinderisch tätig zu sein.

Ein HTS zur Identifizierung von Blockern, Aktivatoren oder Modulatoren des OTRPC4-Kanals kann erfolgen, wie in Beispiel 1 beschrieben, kann aber auch mit sogenannten induzierbaren Expressionssystemen durchgeführt werden, beispielsweise ein durch Tetracyclin induzierbares Plasmid (Gossen M, Bonin AL, Freundlieb S, Bujard H: Inducible gene expression systems for higher eukaryotic cells. Curr Opin Biotechnol 1994, 5, 516-20) oder ein durch den Ecdyson-Rezeptor induzierbares System (Invitrogen). Diese Systeme, aber auch andere, sind kommerziell erhältlich.

Noch ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Erfindung ist ein Aktivator von OTRPC4, auffindbar mit einem erfindungsgemäßen Verfahren.

Noch ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Erfindung ist ein Blocker von OTRPC4, auffindbar mit einem erfindungsgemäßen Verfahren.

Noch ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Erfindung ist ein Modulator von OTRPC4, auffindbar mit einem erfindungsgemäßen Verfahren.

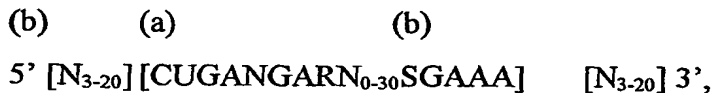
5 Eine weitere bevorzugte Ausführungsform der Erfindung umfaßt eine Anti-Sinn-Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie an einen Teil einer erfindungsgemäßen Nukleinsäure unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann.

Unter Anti-Sinn-Nukleinsäure (Englisch: „anti-sense nucleic acid“ oder auch „anti-sense oligonucleotide“) werden DNS oder RNS-Moleküle im Rahmen dieser Erfindung
10 verstanden, die komplementär zu zumindest einem Teil eines erfindungsgemäßen, d.h. für ein OTRPC4-Polypeptid oder –Fragment kodierenden mRNA Molekül sind. Eine Definition von Anti-Sinn-Nukleinsäure findet sich auch im Stand der Technik (Weintraub HM, 1990 Scientific American, 262, 34-40). In der Zelle hybridisieren Anti-Sinn-Nukleinsäuremoleküle an die Korrespondierende mRNA und bilden ein
15 Doppelstrangmolekül. Die erfindungsgemäßen Anti-Sinn-Nukleinsäuren interferieren mit der Translation der für OTRPC4-Polypeptid oder ein OTRPC4-Fragment kodierenden mRNA, da die Zelle besagte doppelsträngige mRNA nicht translatieren wird. Die zentrale Region der Anti-Sinn-Nukleinsäure im Rahmen dieser Erfindung enthält mindestens 14 Nukleotide, die komplementär zu der Ziel-RNS sind. Die Erfindung umfaßt auch Peptid-
20 Nukleinsäuren, Phosphodiester-Anti-Sinn-Nukleinsäuren und Phosphothioat-Oligonukleotide, die komplementär zu zumindest einem Teil eines erfindungsgemäßen für ein OTRPC4-Polypeptid oder –Fragment kodierenden mRNA Molekül sind. Solche für andere Ziel-RNS spezifischen Substanzen sind aus dem Stand der Technik bekannt (Boado RJ et al., 1998 J Pharm Sci 87: 1308-1315.).

25 In Beispiel 1 (Tabelle 1) sind fünf Anti-Sinn-Sequenzen beispielhaft aufgeführt und die Kriterien, die zu der Auswahl dieser Sequenzen führten, dargestellt.

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform der Erfindung umfaßt eine erfindungsgemäße Anti-Sinn-Nukleinsäure, die ein Ribozym ist. Ribozym im Rahmen dieser Erfindung ist ein RNS-Molekül, das spezifisch mit der Ziel-RNS, d.h. der erfindungsgemäßen für ein
30 OTRPC4-Polypeptid oder –Fragment kodierenden mRNA interagieren und diese irreversibel an einer spezifischen Stelle schneiden kann. Vorzugsweise besitzt das erfindungsgemäße Ribozym eine zentrale Sequenz, die zur Ziel-RNS nicht komplementär ist und für dessen

katalytische Aktivität verantwortlich ist (katalytischer Bereich (a)) und zwei flankierende Sequenzen, die zu zwei benachbarten Sequenzen der Ziel-RNS im wesentlichen komplementär sind (Hybridisierungsbereich (b)), so die Bindung des Ribozyms über Basenpaarung und dadurch die selektive Spaltung der Ziel-RNS erlauben. Eine bevorzugte Ausführungsform des erfindungsgemäßen Ribozyms kann durch folgende generelle Formel dargestellt werden:



worin N ein G, C, A oder U, R ein Purin und S ein Pyrimidin ist und worin die zentrale Region N_{0-30} der Sequenz (a) durch einen Linker ersetzt werden kann, der keine Nukleinsäure ist, nämlich beispielsweise eine Kohlenwasserstoffkette (s.a. Thomson et al., 1993, *Nucleic Acids Res* **21**, 5600-5603.). Die erfindungsgemäßen Ribozyme können beispielsweise ein „Hammerhead“- „Hairpin“- oder „Axehead“-Ribozym sein. Die Struktur von „Hammerhead“-Ribozymen ist dem Fachmann bekannt und auch beispielhaft in Symons RH (1992, *Annu Rev Biochem* **61**, 641-671) bzw. Rossi JJ (1993, *Methods* **5**, 1-5.) beschrieben. „Hairpin“ Ribozyme können Ziel-RNS wirksam in trans spalten, wobei der Wirkmechanismus ähnlich dem „Hammerhead“ Ribozym ist (s. a. Rossi, *supra*, und Hampel et al., 1990, *Nucleic Acids Res* **18**, 299-304.). Auch „Axehead“-Ribozyme können wirksam in trans spalten. Sie sind beispielsweise in Been MD et al., (1994 *Trends Biochem Sci* **19**, 251-256) und Wu HN et al. (1993, *Nucleic Acids Res* **21**, 4193-4199) beschrieben. Der Fachmann kann anhand der aus dem Stand der Technik bekannten Daten die für die Spaltung erforderlichen Minimalsequenzen bzw. -struktur ermitteln und Ribozyme konstruieren, die die für die Zwecke der Erfindung erforderlichen Eigenschaften aufweisen. Besagtes Ribozym kann auch im Rahmen der Erfindung modifiziert werden, um eine erhöhte Nukleasenresistenz zu erhalten. Beispiele hierfür sind die Substitution der 2'-OH Gruppen der Ribose durch 2'-H, 2'-O-methyl, 2'-O-allyl, 2'-Fluor or 2'-Aminogruppen (Paolella et al., 1992, und Pieken et al., 1991) oder die Modifikation von Phosphodiesterbindungen, z.B. indem ein oder zwei Sauerstoffatome gegen Schwefel ausgetauscht werden (Phosphorthioat bzw. Phosphordithioat; Eckstein, 1985, und Beaton et al., in: Eckstein, F. (Hrsg.) *Oligonucleotides and analogues – A practical approach – Oxford, JRL Press (1991)*, 109-135) bzw. durch eine Methylgruppe (Methylphosphonat; Miller, ebenda, 137-154). Weitere Modifikationen umfassen die Konjugation der RNS mit

poly-L-Lysin, Polyalkylderivaten, Cholesterin oder PEG. Vorzugsweise enthalten die erfindungsgemäßen Ribozyme mindestens eine der vorstehend beschriebenen Phosphatmodifikationen und/oder mindestens eine der vorstehend beschriebenen Ribosemodifikationen.

5 Ein weiterer, wichtiger Aspekt der Erfindung ist eine pharmazeutische Zusammensetzung, die eine erfindungsgemäße Nukleinsäure sowie pharmazeutisch akzeptable Träger- oder Hilfsstoffe enthält.

Ein weiterer, wichtiger Aspekt der Erfindung ist eine pharmazeutische Zusammensetzung, die eine erfindungsgemäße Anti-Sinn-Nukleinsäure sowie pharmazeutisch akzeptable
10 Träger- oder Hilfsstoffe enthält.

Ein weiterer, wichtiger Aspekt der Erfindung ist eine pharmazeutische Zusammensetzung, die ein erfindungsgemäßes Polypeptid sowie pharmazeutisch akzeptable Träger- oder Hilfsstoffe enthält.

Pharmazeutisch akzeptable Trägerstoffe oder Hilfsstoffe in dieser Erfindung können
15 physiologisch akzeptable Verbindungen sein, die beispielsweise die Absorption von OTRPC4-Aktivator, -Blocker oder -Modulatoren stabilisieren oder verbessern. Solche physiologisch akzeptable Verbindungen umfassen beispielsweise Kohlenhydrate wie Glukose, Sucrose oder Dextrane, Antioxidantien, wie Ascorbinsäure oder Glutathion, Chelatbildner, niedermolekulare Verbindungen oder andere Stabilisatoren oder Hilfsstoffe
20 (s. a. Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Auflage, Mack Publ., Easton.). Der Fachmann weiß, daß die Auswahl eines pharmazeutisch akzeptablen Trägerstoffes z.B. von der Administrationsroute der Verbindung abhängig.

Ein weiterer, wichtiger Aspekt der Erfindung ist eine pharmazeutische Zusammensetzung, die einen erfindungsgemäßen Vektor sowie pharmazeutisch akzeptable Träger- oder
25 Hilfsstoffe enthält. Die besagte pharmazeutische Zusammensetzung kann auch einen erfindungsgemäßen Vektor für die Gentherapie enthalten und kann zusätzlich als Hilfsstoff ein kolloidales Dispersionssystem oder Liposomen für eine zielgerichtete Applikation der pharmazeutischen Zusammensetzung umfassen.

Ein weiterer, wichtiger Aspekt der Erfindung ist eine pharmazeutische Zusammensetzung,
30 die einen erfindungsgemäßen Wirt sowie pharmazeutisch akzeptable Träger- oder Hilfsstoffe enthält. Auch ein Wirt oder eine Wirtszelle, die einen erfindungsgemäßen Vektor

enthält, kann in einer pharmazeutischen Zusammensetzung im Rahmen dieser Erfindung, beispielsweise zur Gentherapie, verwendet werden.

Ein Beispiel für ein zielgerichtetes Applikationssystem, z.B. für erfindungsgemäße Anti-Sinn-Oligonukleotide oder Ribozyme ist besagtes kolloidales Dispersionssystem. Kolloidale
5 Dispersionssysteme umfassen Makromolekülkomplexe, Nanokapseln, Kügelchen und Lipid-basierte Systeme einschließlich Öl-in-Wasser Emulsionen, Mizellen, gemischte Mizellen und Liposomen oder Liposom-Formulierungen. Das bevorzugte kolloidale System der Erfindung sind Liposomen. Liposomen sind artifizielle Membranvesikel, die als Vehikel in vitro und in vivo nützlich sind. Diese Formulierungen können kationische, anionische oder neutrale
10 Ladung tragen. Es wurde gezeigt, daß große unilamellare Vesikel („large unilamellar vesicles“ LUV), die eine Größe von 0.2-4.0 µm haben, einen Großteil einer wässrigen Pufferlösung mit großen Makromolekülen umschließen können. RNS, DNS und intakte Virione können in die wässrige Phase im Inneren eingekapselt werden und in einer biologisch aktiven Form an das Ziel transportiert werden (Fraley R et al., 1981, Trends
15 Biochem Sci 6, 77-80). Neben Säugerzellen haben sich Liposomen auch für den zielgerichteten Transport von Nukleotiden in pflanzlichen-, Hefe- und bakteriellen Zellen als geeignet erwiesen. Um ein effizientes Gentransfervehikel zu sein, sollten die folgenden Eigenschaften vorhanden sein: (1) die Gene sollten mit einer hohen Effizienz eingeschlossen werden, ohne dabei ihre biologische Aktivität zu verringern; (2) es sollte präferentielle und substantielle Bindung an die Zielzelle im Vergleich zu nicht-Zielzellen erfolgen; (3) die
20 wässrige Phase des Vehikels sollte mit hoher Effizienz in das Zielzellzytoplasma transferiert werden; und (4) die genetische Information sollte akkurat und effizient exprimiert werden (Mannino RJ et al., 1988, BioTechniques 6, 682-690).

Die Zusammensetzung der Liposomen besteht üblicherweise aus einer Kombination von
25 Phospholipiden, insbesondere Hoch-Phase-Übergangstemperatur-Phospholipide (Englisch “high-phase-transition-temperature“), z.B. in Kombination mit Steroiden, z.B. Cholesterin. Andere Phospholipide oder andere Lipide können auch verwendet werden. Die physikalischen Charakteristika der Liposomen hängen vom dem pH, der Ionenkonzentration und der Gegenwart divalenter Kationen ab.

30 Die pharmazeutische Zusammensetzung der gegenwärtigen Erfindung kann auch einen erfindungsgemäßen Vektor als nackten „Genexpressionsvektor“ enthalten. Dies bedeutet, der erfindungsgemäße Vektor ist nicht mit einem Hilfsstoff für zielgerichtete Applikation

assoziiert (z.B. Liposomen, kolloidale Partikel etc.). Ein prinzipieller Vorteil von nackten DNS-Vektoren ist das Fehlen einer Immunantwort, die durch den Vektor selbst hervorgerufen wird.

Die Erfindung betrifft auch die Verwendung einer erfindungsgemäßen Nukleinsäure zur Herstellung eines Medikamentes für die Behandlung von einer Krankheit ausgewählt aus der Gruppe von Diabetes, Hyperlipidämie, Hyperproteinämie, Hypertonus, Schlaganfall, Niereninsuffizienz, Schock sowie weiteren pathophysiologischen Zuständen, die durch Hyper- und Hypoosmolarität charakterisiert sind. Dies sind beispielsweise andere pathophysiologische Zustände, die mit einer Erhöhung oder Erniedrigung der extrazellulären Osmolarität einhergehen, wie z.B. Schockzustände unterschiedlicher Genese, wie z.B. kardiogener, metabolischer, septischer, anaphylaktischer Schock oder Schockzustände ausgelöst durch Verbrennungen oder Polytraumata.

Unter Schock wird im Rahmen dieser Erfindung ein pathophysiologischer Zustand verstanden, der zu einer generalisierten schwerwiegenden Reduktion der Gewebepfusion und einer konsekutiven Gewebeschädigung führt.

Die Erfindung betrifft auch die Verwendung einer erfindungsgemäßen Anti-Sinn-Nukleinsäure zur Herstellung eines Medikamentes für die Behandlung von einer Krankheit ausgewählt aus der Gruppe von Diabetes, Hyperlipidämie, Hyperproteinämie, Hypertonus, Schlaganfall, Niereninsuffizienz und und Schock. Dies sind beispielsweise andere pathophysiologische Zustände, die mit einer Erhöhung oder Erniedrigung der extrazellulären Osmolarität einhergehen, wie z.B. Schockzustände unterschiedlicher Genese, wie z.B. kardiogener, metabolischer, septischer, anaphylaktischer Schock oder Schockzustände ausgelöst durch Verbrennungen oder Polytraumata.

Die Erfindung betrifft auch die Verwendung eines erfindungsgemäßen Vektors zur Herstellung eines Medikamentes für die Behandlung von einer Krankheit ausgewählt aus der Gruppe von Diabetes, Hyperlipidämie, Hyperproteinämie, Hypertonus, Schlaganfall, Niereninsuffizienz und und Schock. Dies sind beispielsweise andere pathophysiologische Zustände, die mit einer Erhöhung oder Erniedrigung der extrazellulären Osmolarität einhergehen, wie z.B. Schockzustände unterschiedlicher Genese, wie z.B. kardiogener, metabolischer, septischer, anaphylaktischer Schock oder Schockzustände ausgelöst durch Verbrennungen oder Polytraumata.

Die Erfindung betrifft auch die Verwendung eines erfindungsgemäßen Wirts zur Herstellung eines Medikamentes für die Behandlung von einer Krankheit ausgewählt aus der Gruppe von Diabetes, Hyperlipidämie, Hyperproteinämie, Hypertonus, Schlaganfall, Niereninsuffizienz und und Schock. Dies sind beispielsweise andere pathophysiologische Zustände, die mit einer Erhöhung oder Erniedrigung der extrazellulären Osmolarität einhergehen, wie z.B. Schockzustände unterschiedlicher Genese, wie z.B. kardiogener, 5 metabolischer, septischer, anaphylaktischer Schock oder Schockzustände ausgelöst durch Verbrennungen oder Polytraumata.

Noch ein wesentlicher Aspekt der Erfindung ist ein nicht menschlicher Säuger, dadurch gekennzeichnet, daß er zusätzlich zu seinem Genom eine erfindungsgemäße Nukleinsäure (Transgen) enthält. Hierunter wird ein nicht menschliches, transgenes Säugetier verstanden, das zusätzlich zu seinem Genom eine erfindungsgemäße für OTRPC4 bzw. ein Fragment hiervon kodierende Nukleinsäuresequenz stabil in einen Teil seiner Körperzellen (Chimäre) oder in alle Körperzellen integriert hat und das OTRPC4-Polypeptid bzw. Fragment 15 exprimiert. Dem Fachmann sind transgene Säugetiere bekannt, die für andere Sequenzen transgen sind (s.a. Schenkel, J., Spektrum Akad. Verl., 1995). Erfindungsgemäße transgene Säuger sind beispielsweise transgene Nagetiere, wie Ratten, Mäuse und Hamster, aber auch Ziegen, Rinder, Schweine, Schafe sowie weitere dem Fachmann bekannte nicht menschliche Säuger. Ganz besonders bevorzugt sind Mäuse.

Noch ein wesentlicher Aspekt der Erfindung ist ein nicht menschlicher Säuger, dadurch gekennzeichnet, daß in seinem Genom eine erfindungsgemäße Nukleinsäure inaktiviert (Gen-Knock-out) ist. Hierunter wird ein nicht menschliches, sog. Knock-out Säugetier verstanden, in dessen Genom die einer erfindungsgemäßen, für OTRPC4 bzw. ein Fragment hiervon kodierende Nukleinsäuresequenz entsprechende endogene Nukleinsäuresequenz 25 inaktiviert ist und in der kein oder nur geringe Mengen an OTRPC4-Polypeptid bzw. Fragment hiervon exprimiert werden. Geringe Mengen bedeutet, daß die Expression von OTRPC4-Polypeptid oder -Fragment um mindestens 50%, bevorzugt über 50 bis 80%, besonders bevorzugt über 80 bis 100% gegenüber vergleichbaren, nicht knock-out Säugern reduziert ist. Die Inaktivierung erfolgt oft durch Einklonierung einer Reportersequenz, 30 beispielsweise des Gens für Neomycinresistenz. Dem Fachmann sind weitere knock-out Säugetiere bekannt, bei denen andere Sequenzen inaktiviert sind. Erfindungsgemäße knock-out Säuger sind beispielsweise knock-out Nagetiere, wie Ratten, Mäuse und Hamster, aber

auch Ziegen, Rinder, Schweine, Schafe sowie weitere dem Fachmann bekannte nicht menschliche Säuger. Ganz besonders bevorzugt sind Mäuse. Verfahren zur Herstellung eines erfindungsgemäßen Knock-out Säugers sind unten beschrieben. Die Konstruktion eines rekombinanten Vektors für einen konditionellen Knock-out ist exemplarisch in
5 Beispiel 1 beschrieben.

Noch ein wesentlicher Aspekt der Erfindung ist ein nicht menschlicher Säuger, dadurch gekennzeichnet, daß in seinem Genom eine erfindungsgemäße Nukleinsäure modifiziert (Gen-Knock-in) ist. Diese Modifikation kann mittels homologer Rekombination der kodierenden Nukleinsäure erfolgen und führt dazu, daß in diesem Säuger beispielsweise ein
10 OTRPC4-Polypeptid bzw. Fragment hiervon mit veränderten Eigenschaften exprimiert wird. Dies kann z.B. durch eine Mutation in einem kleinen Teil der kodierenden Nukleinsäure erfolgen. Erfindungsgemäße knock-out Säuger sind beispielsweise Knock-in Nagetiere, wie Ratten, Mäuse und Hamster, aber auch Ziegen, Rinder, Schweine, Schafe sowie weitere dem Fachmann bekannte nicht menschliche Säuger. Ganz besonders
15 bevorzugt sind Mäuse. Verfahren zur Herstellung eines erfindungsgemäßen Knock-in Säugers sind unten beschrieben.

Die erfindungsgemäßen nicht menschlichen transgenen bzw. knock-out bzw. knock-in Säuger eignen sich hervorragend, die Funktion des OTRPC4-Genes bzw. -Polypeptides zu analysieren. Hierbei können jeweils die erfindungsgemäßen Säuger mit Säugern derselben
20 Spezies oder vorteilhafterweise desselben Wurfes („littermates“) verglichen werden und dadurch die Funktion des erfindungsgemäßen Polypeptides untersucht werden.

Ebenso von der Erfindung umfaßt sind Verfahren zur Herstellung eines nicht menschlichen Säugers, dadurch gekennzeichnet, daß

- a) embryonale Stammzellen des besagten nicht menschlichen Säugetiers mit einem
25 Vektor transfiziert werden, der eine erfindungsgemäße Nukleinsäure sowie eine Rekombination zwischen der genomischen DNA, des besagten nicht menschlichen Säugetieres und der im Vektor enthaltenen Nukleinsäure ermöglicht
- b) stabil transfizierte Stammzellen aus Schritt a) isoliert werden und diese in die Keimbahn eines weiblichen Tieres des besagten nicht menschlichen Säugetieres
30 überführt werden

- c) die Nachkommen des besagten weiblichen Tieres aus Schritt b) mit einem männlichen Tier derselben Art werden auf Tiere, die das durch die Nukleinsäure aus Schritt a) kodierte Polypeptid exprimieren, analysiert.

Embryonale Stammzellen (ES) lassen sich durch Kultivierung der inneren Zellmasse von Blastozysten gewinnen und in Gewebekultur vermehren. Zum Zwecke der Erfindung wird die Differenzierung der Stammzellen verhindert, in dem man sie auf Nährzellen aus Fibroblasten kultiviert oder dem Kulturmedium Leukämie-inhibierenden-Faktor (LIF) zusetzt. Das Einschleußen von erfindungsgemäßer Nukleinsäure in ES Zellen, beispielsweise DNS kodierend für OTRPC4 oder ein Fragment hiervon wird beispielsweise mittels Transfektion, Retrovirusinfektion oder Elektroporation durchgeführt. Ein solcher Vektor trägt beispielsweise das Neomycin-Gen, das Resistenz gegenüber G418 verleiht. Damit können erfolgreich transfizierte embryonale Stammzellen identifiziert werden, indem dem Kulturmedium G418 zugesetzt wird. Nur erfolgreich transfizierte ES können unter diesen Bedingungen wachsen. Solche transfizierte ES werden beispielsweise in Blastozysten wieder überführt und diese werden in die Keimbahn eines weiblichen erfindungsgemäßen Säugers überführt. Die mutierten Zellen werden in den sich entwickelnden Embryo integriert und nehmen an der Entwicklung aller Gewebe teil. Hierdurch gelangt das erfindungsgemäße Transgen in die Keimbahn. Es bilden sich chimäre Tiere, die z.B. durch vorherige Auswahl von ES-Zellen und Empfängerblastozysten von Tieren unterschiedlicher Fellfarbe charakterisiert werden können. Durch mehrfache Züchtung der chimären Tiere erhält man homozygote Tiere, die das Transgen in jedem Gewebe exprimieren.

Ein weiteres erfindungsgemäßes Verfahren zur Herstellung von nicht menschlichen transgenen Säugern umfaßt die Isolierung von befruchteten Eizellen, die Mikroinjektion von erfindungsgemäßer, für OTRPC4 oder ein Fragment hiervon kodierender Nukleinsäure, die Implantation besagter befruchteter Eizellen in die Keimbahn eines pseudoschwangeren, weiblichen Tieres besagten nicht menschlichen Säugers und die Untersuchung der Nachkommen besagten weiblichen Tieres mit einem männlichen Tier derselben Art auf Expression des Transgenes. Die durch Mikroinjektion eingebrachte Nukleinsäure, bevorzugt DNS, integriert sich oft an anderer Stelle als die vergleichbare endogene Nukleinsäure, wird meist jedoch genauso exprimiert. Besagte erfindungsgemäße Nukleinsäure kann in einer, aber auch in zahlreichen, d.h. 2 bis mehreren hundert oder tausenden Kopien in das Genom

integriert sein. Details zu Verfahren zur Herstellung von transgenen, nicht-menschlichen Säugern sind dem Fachmann bekannt (s.a. Schenkel, J., Spektrum Akad. Verl., 1995).

Ebenso von der Erfindung umfaßt sind Verfahren zur Herstellung eines nicht menschlichen Säugers, dadurch gekennzeichnet, daß

- 5 d) embryonale Stammzellen des besagten nicht menschlichen Säugetiers mit einem Vektor transfiziert werden, der eine Nukleinsäure enthält, die an eine erfindungsgemäße Nukleinsäure unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann, und durch Insertion einer zusätzlichen Nukleinsäuresequenz inaktiviert ist, sowie eine Rekombination zwischen der genomischen DNA des besagten nicht
- 10 menschlichen Säugetieres und der im Vektor enthaltenen Nukleinsäure ermöglicht
- e) stabil transfizierte Stammzellen aus Schritt d) isoliert werden und diese in die Keimbahn eines weiblichen Tieres des besagten nicht menschlichen Säugetieres überführt werden.
- f) die Nachkommen des besagten weiblichen Tieres aus Schritt e) mit einem
- 15 männlichen Tier derselben Art werden auf Tiere, die das durch die Nukleinsäure aus Schritt d) kodierte Polypeptid exprimieren, analysiert.

Um einen erfindungsgemäßen Säuger herzustellen, bei dem das endogene Gen, das einer erfindungsgemäßen OTRPC4 Nukleinsäuresequenz entspricht oder eine solche umfaßt, durch sogenanntes knock-out inaktiviert ist, wird besagtes Gen durch homologe

20 Rekombination angesteuert und inaktiviert. Unter homologer Rekombination versteht der Fachmann Verfahren, die es ermöglichen, Nukleinsäure z.B. DNS gezielt in Gene einzubauen. Eine klonierte Kopie des endogenen Genes wird durch eine funktionslose Kopie ersetzt. Beispielsweise wird die eingeschleuste Kopie durch eine eingefügte Kopie eines oder mehrerer Antibiotikumresistenzgene(s) unterbrochen, was zur Inaktivierung

25 führt. Beispielsweise kann die Sequenz für das Zielgen durch das Neomycinresistenzgen unterbrochen sein. Beispielsweise durch Einbringen Herpes-simplex Virus Thymidinkinase (HSV-tk), z.B. am Ende des Konstruktes, können diejenigen Zellen identifiziert werden, bei denen homologe Rekombination stattgefunden hat. Im Rahmen der Erfindung wird eine in einen geeigneten Vektor klonierte, inaktivierte Kopie einer für OTRPC4 oder ein Fragment

30 hiervon kodierender Nukleinsäure in embryonale Stammzellen (wie oben beschrieben) mit einer geeigneten Methode, d.h. durch Transfektion, Retrovirusinfektion oder Elektroporation in die ES eingeschleust. Die eingeschleuste Nukleinsäure geht in einem Teil

der ES mit der entsprechenden zellulären Kopie des OTRPC4 Genes eine homologe Rekombination ein und ersetzt das Gen durch die erfindungsgemäße, eingeführte Nukleinsäure. Beispielsweise können mittels des Antibiotikums G418 und der antiviralen Substanz Ganciclovir diejenigen ES identifiziert werden, bei denen homologe
5 Rekombination stattgefunden hat. ES, bei denen homologe Rekombination erfolgt ist, werden in eine Blastozyste injiziert, die in den Uterus eines weiblichen nicht menschlichen Säugers der selben Art wie der ES eingesetzt. Es bilden sich chimäre Tiere, die z.B. durch vorherige Auswahl von ES-Zellen und Empfängerblastozysten von Tieren unterschiedlicher Fellfarbe charakterisiert werden können. Durch mehrfache Züchtung der chimären Tiere
10 erhält man homozygote Tiere, bei denen das Zielgen vollständig in jedem Gewebe inaktiviert ist.

Ebenso von der Erfindung umfaßt sind Verfahren zur Herstellung eines nicht menschlichen Säugers, dadurch gekennzeichnet, daß

- g) embryonale Stammzellen des besagten nicht menschlichen Säugetiers mit einem
15 Vektor transfiziert werden, der eine Nukleinsäure enthält, die an eine erfindungsgemäße Nukleinsäure unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann, und durch Insertion einer zusätzlichen Nukleinsäuresequenz modifiziert ist, sowie eine Rekombination zwischen der genomischen DNA des besagten nicht menschlichen Säugetieres und der im Vektor enthaltenen Nukleinsäure ermöglicht
- h) stabil transfizierte Stammzellen aus Schritt g) isoliert werden und diese in die
20 Keimbahn ein weibliches Tier des besagten nicht menschlichen Säugetieres überführt werden
- i) die Nachkommen des besagten weiblichen Tieres aus Schritt h) mit einem männlichen Tier derselben Art werden auf Tiere, die das durch die Nukleinsäure aus
25 Schritt g) kodierte Polypeptid exprimieren, analysiert.

Das Verfahren zur Herstellung von Knock-in Tieren wird in Anlehnung an das Verfahren zur Herstellung von Knock-out Tieren durchgeführt mit dem Unterschied, daß das Zielgen nicht inaktiviert, sondern modifiziert wird.

Das folgende Beispiel soll dem Verständnis der Erfindung dienen und in keiner Weise als
30 limitierend für die Breite der Erfindung angesehen werden.

Beispiel 1

Struktur eines OTRPC4-Kanals

Im nachfolgenden Beispiel wird exemplarisch die Klonierung und Struktur eines erfindungsgemäßen OTRPC4-Polypeptides bzw. OTRPC4-Kationenkanals beschrieben. Die Beschreibung bzw. Verwendung des Begriffes OTRPC4-DNA, -RNA, Protein oder -Kanal soll in keiner Weise limitierend für die Breite der Erfindung gesehen werden, sondern nur dazu dienen, die Erfindung näher zu illustrieren. Weitere OTRPC4-DNA, -RNA, -Proteine oder -Kanäle sind in der Beschreibung dargestellt.

Die mRNA-Expression wurde durch Northern-Blot-Hybridisierungen mit EST-Fragmenten (Englisch EST = „expressed sequence tag“) AA139413 und W53556 untersucht. (hinterlegt in der Genbank). Ein RNA-Trankript einer Länge von 3,3 kb vor allem in Leber, Herz, Niere und Testis exprimiert wird, wurde identifiziert (Abbildung 1b). Aus der aus der Niere einer Maus aufgereinigten RNA wurde mit Hilfe der RACE-PCR-Methode eine cDNA kloniert mit einer Länge von 3277 bp, die einen offenen Leserahmen von 2616 bp enthält (siehe erfindungsgemäße Sequenzen, supra und Ansprüche 19 und 20). Die genomische Organisation der murine Sequenz von OTRPC4 wurde durch Sequenzierung der Intron-Exon-Übergänge geklärt und ist beispielhaft in Abbildung 2 dargestellt. In situ Hybridisierungen mit einem Fragment aus dem kodierenden Bereich der OTRPC4-DNA zeigten eine hohe Expression der OTRPC4-RNA im distalen Konvolut der Niere, aber auch Plexus choreoideus in den Hirnventrikeln (Abbildung 3).

Die cDNA von OTRPC4 wurde in ein eukaryotisches Expressionsplasmid kloniert, das C-terminal ein GFP-Fusionsanteil (GFP=„green fluorescent protein“ grün fluoreszierendes Protein) enthielt (pEGFP-N1). Dieses Plasmid wurde für die nachfolgenden Expressionsstudien verwendet. Von der Nukleotidsequenz kann abgeleitet werden, daß das OTRPC4-Protein beispielsweise aus 871 Aminosäuren bestehen kann und sechs mögliche transmembranäre Segmente enthält mit einer Sequenz, zwischen Segment 5 und 6, die möglicherweise für eine Porenregion eines Kanals kodiert (Abbildung 1a).

Die Erfindung betrifft in einem weiteren Aspekt einen humanen OTRPC4 mit der Aminosäuresequenz:

MADSSSEGPRAGPGEVAELPGDESGTPGGAEFPLSSLANLFEGEDGSLSPSPADASRP
 AGPGDGRPNLRMKFQGAFRKGVNPNIDLLESTLYESSVVPGPKKAPMDSLFDYGT
 YRHHSSDNKRWRKKIIEKQPQSPKAPAPQPPPILKVFNRPILFDIVSRGSTADLDGLL
 PFLTHKKRLTDEEFREPSTGKTCLPKALLNLSNGRNDTIPVLLDIAERTGNMREFIN
 5 SPFRDIYYRGQTALHIAIERRCKHYVELLVAQGADVHAQARGRFFQPKDEGGYFYF
 GELPLSLAACTNQPHIVNYLTENPHKKADMRRQDSRGNTVLHALVAIADNTRENT
 KFTVKMYDLLLLKCARLFPDSNLEAVLNNDGLSPLMMAAKTGKIGIFQHIREVT
 DEDTRHLSRKFKDWAYGPVYSSLYDLSSLDTCGEEASVLEILVYNSKIENRHEMLA
 VEPINELLRDKWRKFGAVSFYINVVSYLCAMVIFTLTAYYQPLEGTPPYPYRTTVD
 10 YLRLAGEVITLFTGVLFFFTNIKDLFMKKCPGVNSLFIDGSFQLLYFIYSVLVIVSAA
 LYLAGEIAYLAVMVFALVLGWMNALYFTRGLKLTGTYSIMIQLFKDLFRFLLVY
 LLFMIGYASALVSLNPCANMKVCNEDQTNCTVPTYPSCRDSETFSTFLDLFKLTI
 GMGDLEMLSSTKYPVVFILLVTYIILTFVLLLNMLIALMGETVGQVSKESKHIWKL
 QWATTILDIERSPVFLRKAFRSGEMVTVGKSSDGTDPDRRWCFRVDEVNWSHWNQ
 15 NLGIINEDPGKNETYQYYGFSHTVGRLRRDRWSSVPRVVELNKN SNPDEVVVPL
 DSMGNPRCDGHQQGYPRKWRTEDAPL

Nach transienter Transfektion (die mit Hilfe des FuGENE 6 Transfektionsreagenz
 20 durchgeführt wurde) des Expressionplasmids kodierend für das OTRPC4-GFP-
 Fusionprotein in HEK293-Zellen konnte 24–36 Stunden später eine gepunktete Fluoreszenz
 in der Plasmamembran festgestellt werden. Damit konnte der Nachweis erbracht werden,
 daß das GFP-Fusionsprotein und damit das OTRPC4-Kanal-Protein exprimiert wird und in
 die Plasmamembran eingebaut wird.

25 Für die nachfolgenden Experimenten wurden HEK293-Zellen mit dem oben genannten
 OTRPC4-enthaltenden Expressionsplasmid transient transfiziert und 24-36 Stunden später
 zu nicht transfizierten Kontrollzellen verglichen.

Northern-Blots zum Nachweis von OTRPC4 RNA in humanen Geweben

30 Mit einem Sondenmix, basierend auf einem partiellen Klon, der aus einer humanen
 Speicheldrüsen cDNA-Bank isoliert worden war, wurde ein kommerzieller Northern-Blot
 der Firma Clontech hybridisiert. Das Sondengemisch bestand aus drei Fragmenten, die

durch Restriktion des Klon mit Stu I gewonnen worden waren. Die Fragmente waren 496 bp, 556 bp und 698 bp lang und entsprechen den drei 3' Stu I -Fragmenten der humanen DNS des OTRPC4.

Unter den verwendeten Bedingungen, konnte auf dem Filter mit RNAs aus zwölf humanen Geweben ein Signal in der Niere gezeigt werden. Es wurden zusätzlich Filter (Clontech) mit RNA aus kardiovaskulären Geweben, aus Geweben des Verdauungssystems und aus Geweben des endokrinen System hybridisiert. Auf diesen Northern Blots zeigte sich kein eindeutiges Signal.

Erhöhung der intrazellulären Kalzium-Konzentration in HEK293-Zellen, die den OTRPC4-Kanal exprimieren

Um die Funktion des OTRPC4-Kanales zu studieren wurden HEK293-Zellen transient mit Expressionsplasmid, das das OTRPC4-GFP-Fusion Konstrukt enthielt, transfiziert und anschließend die Konzentration der intrazellulären Kalziumkonzentration ($[Ca^{2+}]_i$) mit Hilfe der FURA-2-Methode unter Verwendung eines monochromatischen Einzelzellkalziummessplatzes gemessen (Abbildung 4). Die basale $[Ca^{2+}]_i$ in OTRPC4-exprimierenden Zellen war im Vergleich zu den Kontrollzellen signifikant erhöht (94 ± 11 nM; 50 Zellen gemessen in drei unabhängigen Experimenten versus 41 ± 3 nM; 63 Zellen gemessen in drei unabhängigen Experimenten). Um nachzuweisen, daß die Erhöhung der $[Ca^{2+}]_i$ durch einen Einstrom von extrazellulären Kalzium bedingt ist, wurden sog. Mangan-Quench-Experimente durchgeführt, die ergaben, daß das FURA-2-Signal durch Zugabe von 200 nM Mangan zur extrazellulären Lösung gehemmt wurde. Zusätzlich führte das Weglassen des Kalziums aus der extrazellulären Lösung eine Hemmung des basal erhöhten FURA-2-Signals (siehe Abbildung 4). Beide Ergebnisse zeigen, daß es sich bei OTRPC4 um einen Kalzium-durchlässigen Kationenkanal der Membran handelt.

Messung der OTRPC4 vermittelten Änderung der intrazellulären Kalzium-Konzentration in HEK293 Zellen, die den OTRPC4 Kanal exprimieren

Um die Funktion der mit dem OTRPC4 transfizierten HEK293 Zellen mit einer weiteren Methode zu testen, wurde die intrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration mit FURA-2 gemessen.

Die Experimente wurden auf einem Luminescence Spectrometer LS 50 B (Perkin Elmer) durchgeführt.

Um das Ausmaß des Kalziumeinstroms in die Zellen zu testen, wurde die maximale intrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration mit Ionomycin hervorgerufen. Diese $[\text{Ca}^{2+}]_i$ konnte mit EGTA wieder auf den Ausgangswert gebracht werden. Als Nachweis für den Einstrom von extrazellulärem Kalzium über den OTRPC4 wurde die Änderung der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration durch Erniedrigung der Osmolarität um 100 mosmol/l (von 320 mosmol/l auf 220 mosmol/l) gezeigt. Durch die hypotone Lösung ergab sich eine Erhöhung der $[\text{Ca}^{2+}]_i$, die durch EGTA gequencht werden konnte. Nach Gabe von LOE908 (Embaco A, Romanin C, Birke FW, Kukovetz WR, Groschner K : Inhibition of a store-operated Ca^{2+} entry pathway in human endothelial cells by the isoquinoline derivative LOE 908. *British Journal of Pharmacology*(1996) 119 702-706) (100 μM) konnte die Erhöhung der $[\text{Ca}^{2+}]_i$ durch hypotone Lösung zur Hälfte blockiert werden (Abbildung 9). Das Ergebnis zeigt, daß es sich bei dem OTRPC 4 um einen Kationenkanal handelt und LOE908 den OTRPC4 blockiert.

OTRPC4 als Regulator der Osmolarität körpereigener Flüssigkeiten

Die vorstehend beschriebenen Experimente zeigen, dass OTRPC4 die Osmolarität körpereigener Flüssigkeiten regulieren kann, die durch Sekretion gebildet werden, wie zum Beispiel Liquor im Gehirn, das Kammerwasser des Auges (und damit auch den Augeninnendruck), der Speichel der Speicheldrüsen etc.. Bei Abweichungen wie zum Beispiel Hypoosmolarität werden dabei mit einem Calziumeinstrom gegenregulierende Prozesse eingeleitet.

Die vorliegende Erfindung betrifft daher auch die Verwendung von Modulatoren von OTRPC4 bzw. der biologischen Aktivität von OTRPC4, insbesondere Inhibitoren oder Aktivatoren, zur Regulierung der Osmolarität körpereigener Flüssigkeiten, insbesondere Liquor des Gehirns, Kammerwasser des Auges, und/oder Speichel. Die vorliegende Erfindung betrifft ferner pharmazeutische Zusammensetzungen, die Modulatoren, Inhibitoren, und/oder Aktivatoren von OTRPC4 enthalten, sowie die Verwendung von Modulatoren, Inhibitoren, und/oder Aktivatoren von OTRPC4 zur Herstellung pharmazeutischer Zusammensetzungen zur prophylaktischen oder therapeutischen

Regulierung der Osmolarität körpereigener Flüssigkeiten, die durch Sekretion gebildet werden, insbesondere Liquor des Gehirns, Kammerwasser des Auges, und/oder Speichel, bei Erkrankungen oder gesundheitlichen Zuständen, bei denen dies notwendig ist.

Die OTRPC4-vermittelte Änderung der intrazellulären Kalziumkonzentration ist abhängig von der Osmolarität der extrazellulären Lösung

Der Einfluß der extrazellulären Osmolarität auf die Kanalaktivität von OTRPC4 wurde untersucht. Nach Verringerung der Osmolarität der extrazellulären Lösung konnte eine länger, transienter und reversibler Anstieg der $[Ca^{2+}]_i$ in den OTRPC4 exprimierenden, aber nicht in den Kontrollzellen beobachtet werden (Abbildung 5). Erhöhung der Osmolarität der extrazellulären Lösung hingegen verminderte $[Ca^{2+}]_i$ (siehe kleine Abbildung in Abbildung 4). Eine signifikante Änderung der $[Ca^{2+}]_i$ wurde bereits bei einer Änderung der Osmolarität der extrazellulären Lösung um 30 mosmol/l beobachtet. Die Änderungen der $[Ca^{2+}]_i$, ausgelöst durch Veränderung der Osmolarität der extrazellulären Lösung, erfolgte schnell und erreichte ihr Maximum nach ca. 30 Sekunden, variierten allerdings von Zelle zu Zelle (siehe Abbildung 4). Nach Rückkehr zu normoosmolaren Lösung kehrte $[Ca^{2+}]_i$ schnell wieder zu dem Basalwert zurück. Um zwischen einem Einstrom von Kalzium aus dem extrazellulären Medium und einer Freisetzung von Kalzium aus intrazellulären Kalziumspeicher zu unterscheiden, wurde im extrazellulären Medium Kalzium durch EGTA ersetzt, während die Zellen einem hypotonen Medium ausgesetzt wurden. Unter diesen Bedingungen kehrte das FURA-2 Signal auf den Basalwert zurück (siehe Abbildung 4). Wurden die intrazellulären Speicher durch vorherige Zugabe von Thapsigargin (5 μ M), einem Hemmer der Kalzium-ATPase des endoplasmatischen Retikulums, (23) entleert, änderte dies nicht an der Amplitude des FURA-2 Signals, ausgelöst durch hypotones Medium.

Diese beiden Ergebnisse belegen, daß in den OTRPC4-exprimierenden Zellen ein Kanal in der Membran exprimiert wird, der für einen osmotisch regulierten Einstrom von Kalzium aus dem extrazellulären Medium verantwortlich ist. Von den beiden Lanthaniden Gd^{3+} und La^{3+} , die die meisten kalziumpermeablen Kationenkanäle blockieren (siehe Ref. 11, 14, 24-26), hemmte $LaCl_3$ bei einer Konzentration von 100 μ M den durch Hypoosmolarität ausgelösten KalziumEinstrom in OTRPC4-exprimierenden Zellen zu etwa 50%.

Die Mitglieder der STRPC-Subfamilie der TRPC-Kanäle werden durch Signale aktiviert, die bedingt durch die Aktivierung der Phospholipase C- β (PLC- β) entstehen (6-15). Die Aktivierung der endogen exprimierten muskarinergen Rezeptoren und damit Aktivierung der PLC- β in OTRPC4-exprimierenden Zellen zeigte keinen Effekt auf den Kalziumeinstrom in diesen Zellen.

Die Zugabe von Capsaicin (10 μ M) und Resiniferatoxin (10 μ M), wie auch die kurzfristige Erhöhung der Temperatur auf 65°C hatten keinen Effekt auf Zellen, die OTRPC4 exprimierten.

10 **Elektrophysiologische Charakterisierung von OTRPC4**

Parallel zu der Erhöhung der basalen $[Ca^{2+}]_i$ zeigten Zellen, die OTRPC4 exprimierten, (detektiert durch Fluoreszenz des GFP-Fusionanteils), einen basalen Ionenstrom gemessen im der sog. Ganzzellkonfiguration. Aufgrund des schnellen „run-down“ der Ionenströme wurden die weiteren Experimente mit der sog. „perforated patch“-Methode durchgeführt.

15 Gemessen in Standard-extrazellulärer Lösung zeigte die Strom-Spannungskurve, gemessen durch das Anlegen von Spannungsrampen, eine auswärts rektifizierende Form mit einem Umkehrpotential von ca. 0 mV (Abbildung 6). Wurde aus der extrazellulären Lösung die Na^+ - und Ca^{2+} -Ionen entfernt, verschwand der Einwärtsstrom und das Umkehrpotential verschob sich in den negativen Bereich. Die durchschnittlichen Ionenströme bei -100 bzw. 20 +100 mV gemessen mit Hilfe von Rampenprotokollen lagen bei $-12,8 \pm 1,1$ bzw. $+32,2 \pm 2,7$ pA/pF ($n=17$, $C_m=9,6 \pm 5,5$ pF). Diese Werte unterschieden sich deutlich von den Werten, die in den Kontrollzellen unter gleichen Bedingungen gemessen wurden; die Kontrollzellen zeigten nur geringe Ionenströme ($-2,6 \pm 0,7$ und $+3,9 \pm 0,9$ pA/pF, $n=5$, $C_m=13,4 \pm 1,5$ pF) mit einer nicht-linearen Strom-Spannungs-Kurve und einem E_r von $-16 \pm 2,1$ mV.

25 Der Austausch der extrazellulären Standard-Lösung gegen eine Lösung, die 100 mM NaCl und 100 mM Mannitol enthielt (Osmolarität: 320 mosmol/l) verschob E_r zu einem negativeren Potential ($-11,2 \pm 1,6$ mV, $n=14$), wie es von einem durch Kationen getragenen Strom bei der Reduktion der extrazellulären Natriumkonzentration zu erwarten wäre (siehe Abbildung 6). Desweiteren wurden die einwärts- als auch die auswärts gerichtete 30 Stromkomponente reduziert ($-7,0 \pm 0,8$ und $22,7 \pm 2,7$ pA/pF bei -100 bzw. +100 mV) (siehe Abbildung 6). Die Applikation einer hypoosmolaren Lösung (215 mosmol/l) führte mit einer Verzögerung von wenigen Sekunden (ca. 18 Sekunden im Mittel) zu einer Erhöhung des

einwärts, wie auch des auswärts gerichteten Stroms (Abbildung 7). Das Maximum dieser Erhöhung wurde im Mittel nach 50 Sekunden erreicht. Die maximalen Stromdichten des einwärts bzw. auswärts gerichteten Stroms betrugen $-16,9 \pm 1,4$ bzw. $66,0 \pm 6,1$ pA/pF ($n=13$). Die Strom-Spannungs-Kurve des durch hypoosmolare Lösung aktivierten Stroms hatte die gleiche Form wie die des spontanen Stromes in OTRPC4 exprimierenden Zellen, allerdings war das Umkehrpotential zu stärker positivem Potential verschoben ($-5,6 \pm 0,7$ mV). Die Entfernung von Natrium- und Kalziumionen aus der extrazellulären Lösung führte zu einem kompletten aber reversiblen Block des Einwärtsstromes und reduzierte die auswärts gerichtete Stromkomponenten (siehe Abbildung 7). Nach Austausch der hypotonen Lösung durch Lösung mit 320 mosmol/l wurden wieder niedrige Stromflüsse gemessen, vergleichbar zu den Ausgangswerten vor Zugabe der hypotonen Lösung. In den Kontrollzellen löste die Zugaben von hypotoner extrazellulärer Lösung einen Stromfluß aus, der die Eigenschaften von Chlorid-Kanälen aufwies, die durch Volumenänderung aktiviert werden (27). Die Aktivierung dieser Stöme konnte durch die Zugabe des Chloridkanal-Blockers NPPB (50 μ M) vollständig gehemmt werden, während die durch hypotone Lösung ausgelösten Kationenstöme in OTRPC4 exprimierenden Zellen durch diesen Blocker nicht beeinflußt wurden.

Um die Ionenselektivität von OTRPC4 zu bestimmen, wurde die hypotone Lösung, die zur Auslösung der Ströme verwendet wurde, durch hypotone Lösungen ersetzt, die entweder nur Natrium oder nur 20 mM Kalzium als Kationen enthielten. Die gemessenen Umkehrpotentiale betrugen für eine Lösung, die nur 100 mM Natrium enthielt, $-14,5 \pm 8,8$ mV ($n=5$) und für eine Lösung, die nur 20 mM Kalzium enthielt, $+5,7 \pm 1,4$ mV ($n=5$). Von diesen Werten konnte ein Verhältnis der Ionenpermeabilität von $6,3 \pm 0,5$ für P_{Ca}/P_{Na} und $0,8 \pm 0,3$ für P_{Na}/P_{Ca} bestimmt werden.

Um zu testen, ob Zugkräfte an der Membran die durch OTRPC4 getragenen Ströme auslösen kann, wurden positive und negative Drücke auf die Patch-Pipette angelegt, wobei die Ganzzellstöme sowohl in der „cell-attached-“, als auch in der Ganzzellkonfiguration gemessen wurden. Es wurde keine Beeinflussung der durch OTRPC4 getragenen Ströme durch Druckänderungen festgestellt.

Die Ströme, die durch Hypoosmolarität aktiviert werden konnten, waren reversibel mit den Kationen Gd^{3+} und La^{3+} zublockieren. Gd^{3+} in einer Konzentration von 100 μ M hatte den

stärksten Effekt und reduzierte den Strom um 70 %, wohingegen La^{3+} in der selben Konzentration einen schwächeren inhibitorischen Effekt zeigte. Ruthenium Rot, ein Inhibitor des VR1 und des VRL-1 konnte Ströme durch den OTRPC4 vollständig aufheben.

High-throughput Screen zur Identifizierung eines Blockers, Aktivators oder Modulators des OTRPC4-Kationenkanals

Das oben beschriebene eukaryotische Expressionsplamid mit der OTRPC4-cDNA enthält zusätzlich auch ein Gen, daß den Zellen, die mit diesem Plasmid transfiziert werden, eine Resistenz gegen das Antibiotikum G418 verleiht. HEK293-Zellen wurden durch Lipofektion wie oben beschrieben transfiziert und stabil exprimierende Zellen durch Selektion mit G418 isoliert. Damit der OTRPC4-Kanal während der Selektionsperiode nicht konstitutiv aktiv ist, wurden die HEK293-Zellen in einem Medium kultiviert, dessen Osmolarität auf 320 mosmol/l eingestellt war. Die den OTRPC4-Kanal stabil exprimierenden HEK293-Zellen wurden in 384 well Platten ausgesät und in den Zellen mit Hilfe eines „Fluorescence Imaging Plate Readers“ (FLIPR) die durch Zugabe von hypotonen Medium ausgelöste Erhöhung der $[\text{Ca}^{2+}]_i$ gemessen.

Konstruktion eines rekombinanten Vektors für einen konditionellen Gene Knock-out:

Für eine erfolgreiche homologe Rekombination in vivo ist eine identische Sequenz von 6-8 kb Länge notwendig. Das entsprechende Exons muß dabei nicht in der Mitte liegen, sondern es wird allgemein eine asymmetrische Anordnung bevorzugt. Diese erlaubt eine PCR-Analyse der Zellklone der transfizierten ES-Zellen über einen kurzen Bereich von ca 2-3 kb. Dabei bleibt ein langer Arm mit ca 5-6 Kb auf der anderen Seite. Übertragen auf die vorhandene Genstruktur des murinen OTRPC4-Kanals (siehe Abbildung 2) und dem Wunsch die Porenregion zu inaktivieren, boten sich folgende DNA-Konstrukte an. Intron 11, bei Base 1965 gelegen, hat eine Größe > 5 kb, sodaß hier die DNA für den langen Arm gewonnen werden kann. Exon 12 mit ca 420 bp wurde zum Zweck des konditionellen Knock-outs mit flankierenden LoxP-Sites getaggt. Intron 12, bei Base 2286bp liefert noch ausreichende Größe für einen kurzen Arm. Damit fehlt nach dem Knock-out und der Insertion der Neomycin-Kassette das Exon 12 und damit dem Kanalprotein ein Teil der fünften transmembranären Region, die Pore, die sechste transmembranäre Region und ein

Teil des anschließenden zytosolischen Bereiches. Das OTRPC4-Protein, das in den konditionellen Knock-out Mäusen exprimiert wird, wird in vivo funktionell inaktiv sein.

Auswahl von Sequenzen zur Herstellung von Anti-sense Oligonukleotiden zur Inaktivierung des OTRPC4-Kanals:

Die in Tabelle 1 aufgeführten Anti-sense Sequenzen wurden nach folgenden Regeln ausgewählt:

- Die Sequenzen weisen möglichst wenig Homologie zu den anderen Kanälen der OTRPC Familie auf.
- Cluster von Guaninen (GGGG) wurden vermieden, da diese zu Sekundärstrukturen und damit zu unspezifischen Interaktionen mit Proteinen führen.
- GC und AT Basenpaare sind in etwa gleich verteilt sein
- eine der Sequenzen überdeckt das ATG, um zusätzlich zur Induktion einer RNase H, die die Target-RNA degradiert, die Hemmung des Translationsstartes als Mechanismus einzuschließen.

Tabelle 1:

Antisense-Oligo 1/Base 6-21 (5'-UTR)
CGT CTG CAC TGC TCA G
Antisense-Oligo 2/Base 41-55 (kodierend)
CCT TCG CTG GAA TCC
Antisense-Oligo 3/Base 123-137 (kodierend)
GAGGAGAGAGGAAAAGC
Antisense-Oligo 4/Base 225-240 (kodierend)
CAT GCGCAGATTTGGTGC
Antisense-Oligo 5/Base 303-320 (kodierend)
CACCGAGGACTCATATAG

Die ausgewählten Antisense Sequenzen können auch als flankierende Sequenzen zur Konstruktion von Ribozymen verwendet werden.

Erhöhung der intrazellulären Kalzium-Konzentration in Zellen des Plexus choroideus (Schwein)

Um die Funktion des Kanals in Primärzellen zu untersuchen, wurden Zellen des Plexus choroideus vom Schwein in Kultur genommen und ihre Reaktion auf hypoosmotische Lösung untersucht. Die Experimente wurden mit der FURA-2 Methode durchgeführt, wodurch die Veränderungen der $[Ca^{2+}]_i$ registriert werden konnten. Die mit FURA-2 beladenen Zellen des Plexus choroideus zeigten ähnlichen Ca^{2+} abhängige Fluoreszenzänderungen wie die mit dem OTRPC4 transfizierten HEK293 Zellen (Abbildung 10). Es ergab sich durch hypoosmolare Lösung ein Ca^{2+} -Anstieg in den Zellen, der durch Ca^{2+} Entzug des extrazellulären Mediums unter das Ausgangsniveau gesenkt werden konnte. Durch Ca^{2+} Zugabe konnte der erhöhte Ausgangsspiegel wieder erreicht werden. Nach der Zugabe von 20 μM Serotonin zeigte sich ein Peak in der $[Ca^{2+}]_i$, der langsam erst auf die Ausgangskonzentration zurückging. Damit wurde die Vitalität der Zellen und die Sensibilität der Methode überprüft.

Aus diesen Experimenten läßt sich schließen, daß ein Kanal wie der OTRPC4 in den Zellen des Plexus choroideus vorkommen kann und dort für die osmotische Regulation zuständig ist.

Entwicklung eines Antikörpers zum Nachweis des OTRPC4 Proteins

Für den Nachweis des OTRPC4 Proteins wurde ein Antikörper hergestellt. Die Proteinsequenz gegen die der Antikörper gerichtet ist entspricht dem distalen C-Terminus des murinen OTRPC4 Proteins. Die Peptidsequenz ist folgende: CDGHQQGYAPKWRTDDAPL

Zur Herstellung des Antikörpers wurden Kaninchen mit 1 mg KLH-Konjugat des oben dargestellten Peptides immunisiert.

Mit dem AK wurde ein Westernblot mit drei verschiedenen Fraktionen aus HEK293 Zellen, die mit dem OTRPC4 transfiziert worden waren, hybridisiert. Die Kontrollzellen waren native HEK293 Zellen. Die Fraktionen aus dem Cytosol und das Cholatextrakt zeigte kein Signal für das OTRPC4 Fagment, die Zellmembranfraktion zeigte in den transfizierten HEK293 Zellen ein eindeutiges Signal für das Vorkommen des OTRPC4 in der Zellmembran (Abbildung 8).

In einem Immunfluoreszenzassay wurden mit murinem OTRPC4 transient transfizierte 293 HEK-Zellen auf das Vorkommen des OTRPC4 Proteins in der intakten Zellen untersucht. Der Primärantikörper war der oben beschriebene Peptidantikörper. Als Sekundär-AK wurde

ein ant-rabbit-AK mit einem FITC-Konjugat verwendet (Abbildung). Die FITC - Fluoreszenz ist deutlich im Bereich der Zellwand zu erkennen, was mit den Daten aus dem Western blot übereinstimmt.

Das bedeutet, daß OTRPC4 in den mit dem OTRPC4 transfizierten HEK293 Zellen in der Zellmembran als natives Protein integriert ist und der Antikörper das OTRPC4 Protein erkennt und im Western blot oder in der lebenden Zelle über Immunfluoreszenz nachweisen kann.

Literaturstellen

1. Lang, F. et al. Functional significance of cell volume regulatory mechanisms. *Physiol. Rev.* 78, 247-306 (1998).
- 5 2. Colbert, H. A. et al. OSM-9, a novel protein with structural similarity to channels, is required for olfaction, mechanosensation and olfactory adaptation in *Caenorhabditis elegans*. *J. Neurosci.* 17, 8259-8269 (1997).
3. Montell, C. & Rubin, G. M. Molecular characterization of the *Drosophila* trp locus: a putative integral membrane protein required for phototransduction. *Neuron* 2, 1313-1323 (1989).
- 10 4. Harteneck, C. et al. From worm to man: three subfamilies of TRP channels. *Trends Neurosci.* 23, 159-166 (2000).
5. Phillips, A. M. et al. Identification of a *Drosophila* gene encoding a calmodulin-binding protein with homology to the trp phototransduction gene. *Neuron* 8, 631-642 (1992).
- 15 6. Wes, P. D. et al. TRPC1, a human homolog of a *Drosophila* store-operated channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92, 9652-9656 (1995).
7. Zhu, X. et al. Molecular cloning of a widely expressed human homologue for the *Drosophila* trp gene. *FEBS Lett.* 373, 193-198 (1995).
8. Wissenbach, U. et al. Structure and mRNA expression of a bovine trp homologue related to mammalian trp2. *FEBS Lett.* 429, 61-66 (1998).
- 20 9. Zhu, X. et al. trp, a novel mammalian gene family essential for agonist-activated capacitative Ca^{2+} entry. *Cell* 85, 661-671 (1996).
10. Philipp, S. et al. A mammalian capacitative calcium entry channel homologous to *Drosophila* TRP and TRPL. *EMBO J.* 15, 6166-6171 (1996).
- 25 11. Okada, T. et al. Molecular cloning and functional characterization of a novel receptor-activated TRP Ca^{2+} channel from mouse brain. *J. Biol. Chem.* 273, 10279-10287 (1998).
12. Philipp, S. et al. A novel capacitative calcium entry channel expressed in excitable cells. *EMBO J.* 17, 4274-4282 (1998).
- 30 13. Boulay, G. et al. Cloning and expression of a novel mammalian homologue of *Drosophila* transient receptor potential (TRP) involved in calcium entry secondary to activation of receptors coupled by the G_q class of G protein. *J. Biol. Chem.* 272, 29672-29680 (1997).

14. Okada, T. et al. Molecular and functional characterization of a novel mouse transient receptor potential protein homologue TRP7. *J. Biol. Chem.* 274, 27359-27370 (1999).
15. Hofmann, T. et al. Direct activation of human TRPC6 and TRPC3 channels by diacylglycerol. *Nature* 397, 259-263 (1999).
- 5 16. Caterina, M. et al. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 389, 816-824 (1997).
17. Tominaga, M. et al. The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli. *Neuron* 21, 531-543 (1998).
18. Caterina, M. et al. Capsaicin receptor homologue with a high threshold for noxious heat.
10 *Nature* 398, 436-441 (1999).
19. Kanzaki, M. et al. Translocation of a calcium-permeable cation channel induced by insulin-like growth factor-I. *Nat. Cell Biolog.* 1, 165-170 (1999).
20. Hoenderop, J. G. J. et al. Molecular identification of the apical Ca^{2+} channel in 1,25-dihydroxyvitamin D_3 -responsive epithelia. *J. Biol. Chem.* 274, 8375-8378 (1999).
- 15 21. Peng, J. B. et al. Molecular cloning and characterization of a channel-like transporter mediating intestinal calcium absorption. *J. Biol. Chem.* 274, 22739-22746 (1999).
22. Hunter, J.J. et al. Chromosomal localization and genomic characterization of the mouse melastatin gene (*Mln1*). *Genomics* 54, 116-123 (1998)
23. Nagami, K. et al. Molecular cloning of a novel putative Ca^{2+} channel protein (TRPC7)
20 highly expressed in brain. *Genomics* 54, 124-131 (1998)
22. Thastrup, O. et al. Thapsigargin, a tumor promoter, discharges intracellular Ca^{2+} stores by specific inhibition of the endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 2466-2470 (1990).
23. Foskett, J. K. in *Cellular and Molecular Physiology of Cell Volume Regulation* (ed. Strange, K.) 259-277 (CRC Press, Boca Raton, 1994).
25
24. Yang, X. C. & Sachs, F. Block of stretch-activated ion channels in *Xenopus* oocytes by gadolinium and calcium ions. *Science* 243, 1068-1071 (1989).
25. Urbach, V. et al. Mechanosensitive calcium entry and mobilization in renal A6 cells. *J. Memb. Biol.* 168, 29-37 (1999).
- 30 26. Nilius, B. et al. Volume-activated Cl^- channels. *Gen. Pharmacol.* 27, 1131-1140 (1996).

Legenden zu den Abbildungen

Abbildung 1: Aminosäuresequenz der vorhergesagten Porenbildenden Struktur von OTRPC4 und die Gewebeverteilung der Expression von OTRPC4.

- 5 (a) Dargestellt ist die Aminosäuresequenz der vorhergesagten fünften und sechsten transmembranären Domäne und der benachbarten cytosolischen Domäne von OTRPC4. Die transmembranäre Region 5 und 6 und die vermutliche Porenbildende cytoplasmatische Domäne sind als solche bezeichnet, und die konservierten Aminosäuren sind hinterlegt. (b) Autoradiogramm eines Northern-Blots unterschiedlicher Maus Geweben unter Verwendung
10 der EST-Sequenzen der Maus-cDNA codierend für OTRPC4 als Probe. Ein 3,3 kb Fragment wird in der RNA von Herz, Leber, Niere und Testis nachgewiesen, ein zusätzliches 2,2 kb Fragment kann in der RNA von Leber und Niere nachgewiesen werden.

- Abbildung 2:** Sequenzen der cDNA codierend für OTRPC4 der Maus und Organisation
15 des genomischen Klonen von OTRPC4. Der Translationsstart, der Stopcodons, sowie die Übergänge zwischen Exons und Introns und die Länge der Introns sind bezeichnet. Unter der DNA-Sequenz ist die Aminosäuresequenz dargestellt, die vorhergesagten transmembranären Regionen und die Ankyrin-Bindungsstelle sind bezeichnet.

- 20 **Abbildung 3:** In-situ-Hybridisierung von Maus-Niere und -Hirn zum Nachweis der Expression von OTRPC4.

- Darstellt sind ein Sagittalschnitt (a) und ein Horizontalschnitt (f) einer gesamten Maus Niere, zwei Vergrößerungen des Sagittalschnittes der Niere (b, c), ein Sagittalschnitt (e), ein Koronarschnitt (f), ein Horizontalschnitt (g) eines gesamten Maus-Hirns und eine
25 Vergrößerung des Sagittalschnittes eines Maus-Hirns (h). Die entsprechenden Schnitte wurden nach Fixierung des Gewebes mit einem Mikrotom angefertigt und anschließend mit einer radioaktiv markierten RNA-Sonde des kodierenden Bereiches von Maus-OTRPC4 hybridisiert. Gezeigt ist die Expression von OTRPC4 im distalen Konvolut der Niere (b, c) und im Plexus choroideus der Hirn-Ventrikel (h).

- 30 **Abbildung 4:** Zunahme der intrazellulären Kalziumkonzentration in HEK293 Zellen transfiziert mit einem Plasmid, das die cDNA von OTRPC4 exprimiert. Die intrazelluläre Kalziumkonzentration wurde mit Hilfe der FURA-2-Technik in Zellen gemessen, die OTRPC4 exprimieren und zu Zellen verglichen, die diesen Kanal nicht exprimieren. Die
35 Zellen wurden anfänglich in isotoner Lösung, die 100 mM Mannitol und 1 mM CaCl_2 enthielt, kultiviert. Der obere horizontale Balken gibt den Wechsel der extrazellulären Lösung, mit der die Zellen umspült wurden, zu einer 200 mM Lösung an. Der Wechsel der Osmolarität wurde dadurch erreicht, daß das Mannitol weggelassen wurde. In dem Zeitraum, der durch den unteren horizontalen Balken angegeben wird, wurde das Kalzium
40 in der extrazellulären Lösung durch EGTA ersetzt. Die gezeigten Spuren stellen die Mittelwerte aus 17 Zellen (für die OTRPC4-exprimierenden Zellen) und 21 Zellen (für die Kontrollzellen) dar im gleichen Experiment dar. Die kleine Abbildung zeigt die entsprechenden Meßspuren für einzelne OTRPC4-exprimierenden Zellen desselben Experimentes.

- 45 **Abbildung 5:** Osmolaritätsabhängige Änderung der intrazellulären Kalziumkonzentration in HEK293-Zellen, die OTRPC4 transient exprimieren. Gezeigt ist der maximalen

Fluoreszenzquotienten des Kalzium-beladenen und -unbeladen FURA-2 Farbstoffes in Abhängigkeit zur Osmolarität der extrazellulären Lösung.

Abbildung 6: Abnahme des Ionenflusses in OTRPC4-exprimierenden Zellen in einer hyperosmolaren extrazellulären Lösung. Der Ionenfluß wurde durch Spannungsrampen von -100 bis +100 mM in einer Standard extrazellulären Lösung (Osmolarität 305 mosmol/l; 1) und nach Zugabe einer Mannitol enthaltenden Lösung mit einer Osmolarität von 320 mosmol/l (2) aufgenommen. Die kleine Abbildung zeigt den Zeitverlauf des Effektes ausgelöst durch die Erhöhung der Osmolarität der extrazellulären Lösung.

Abbildung 7: Zunahme des Ionenflusses getragen durch Kationen ausgelöst durch hypotone extrazelluläre Lösung in Zellen, die OTRPC4 exprimieren. (A) Der Ganzzell-Ionenstrom einer OTRPC4 exprimierenden Zelle wurde gemessen bei -100 und +100 mV. Zu dem Zeitpunkt, die am horizontalen Balken angegeben sind, wurde die extrazelluläre Standard-Lösung ausgetauscht gegen eine Lösung, die 100 mM NaCl und 100 mM Mannitol (Osmolarität 320 mosmol/l) enthielt, dann gegen eine Lösung ohne Mannitol (215 mosmol/l) und dann wiederum durch eine hypoosmolare Lösung, in der Natrium und Kalzium durch NMDG ersetzt war. Zum Schluß wurde die Zelle wieder mit 320 milliosmolare Lösung umspült. (B) Aufgetragen ist der Ionenstrom, der durch eine einzelne Spannungsrampe in einer OTRPC4 exprimierenden Zelle zu den Zeitpunkten, die in (A) mit Zahlen bezeichnet sind, ausgelöst wurde.

Abbildung 8: Western Blot von OTRPC4 in subzellulären Fraktionen. Mit dem Antikörper wurde ein Westernblot mit drei verschiedenen Fraktionen aus HEK293 Zellen, die mit dem OTRPC4 transfiziert worden waren, hybridisiert. Die Kontrollzellen waren native HEK293 Zellen. Die Fraktionen aus dem Cytosol und das Cholatextrakt zeigte kein Signal für das OTRPC4 Fragment, die Zellmembranfraktion zeigte in den transfizierten HEK293 Zellen ein eindeutiges Signal für das Vorkommen des OTRPC4 in der Zellmembran.

Abbildung 9: Zunahme der intrazellulären Kalziumkonzentration in Zellen, die OTRPC4 exprimieren. Die erste Substanzzugabe erfolgte nach 1 min, die zweite nach 2 min. Die Osmolarität des Messpuffers betrug 320 mosmol/l.

- Leerwert
- Ionomycin (2 µM) EGTA
- hypotone Lösung (220 mosmol/l) EGTA
- LOE908(100 µM) hypotone Lösung (220 mosmol/l)

Abbildung 10: Zunahme des Ionenflusses getragen durch Kationen ausgelöst durch hypotone extrazelluläre Lösung in Zellen des Plexus choroideus. Zu dem Zeitpunkt, die am horizontalen Balken angegeben sind, wurde die extrazelluläre Standard-Lösung ausgetauscht gegen eine Lösung, die eine Osmolarität von 300 mosmol/l hatte, dann gegen eine Lösung mit 230 mosmol/l und dann wiederum durch die Ausgangslösung (Osmolarität 300 mosmol/l). Zum Schluß wurden die Zellen mit 20 µM Serotonin angeregt, um die Vitalität der Zellen und die Sensibilität der Methode zu überprüfen.

Aufgetragen ist der die Ratio spezifische zu unspezifischer Fluoreszenz bei einer FURA-2 Messung gegen die Zeit.

Patentansprüche

1. Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie für den nicht-selektiven Kationenkanal OTRPC4 oder für ein Fragment, eine funktionelle Variante, eine allele Variante, eine
5 Untereinheit kodiert, oder Varianten der besagten Nukleinsäure aufgrund des degenerativen Kodes oder eine Nukleinsäure, die an besagte Nukleinsäure hybridisieren kann.
2. Nukleinsäure nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß sie RNS ist.
3. Nukleinsäure nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß sie DNS ist.
- 10 4. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß sie 5' oder 3' oder 5' und 3' untranslatierte Regionen enthält.
5. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß sie für ein Fragment des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 kodiert.
6. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß sie für
15 eine funktionelle Variante des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 kodiert.
7. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß sie für eine allele Variante des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 kodiert.
8. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß sie für Varianten der Nukleinsäure aufgrund des degenerativen Kodes kodiert.
- 20 9. Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie an eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 8 unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann.
10. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß besagter nicht-selektiver Kationenkanal OTRPC4 ein Säugerkationenkanal ist.
11. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß besagter
25 nicht-selektiver Kationenkanal OTRPC4 murin ist.
12. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß besagter nicht-selektiver Kationenkanal OTRPC4 human ist.
13. Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie die Sequenz
CTCTCACCGCCTACTACCAGCCGCTGGAGGGCACAAATGGCGGATTCCAGCGAA
30 GGCCCCCGCGCGGGGCCCCGGGGAGGTGGCTGAGCTCCCCGGGGATGAGAGTGG
CACCCCAGGTGGGGAGGCTTTTCCTCTCTCCTCCCTGGCCAATCTGTTTGAGGG
GGAGGATGGCTCCCTTTCGCCCTACCGGCTGATGCCAGTCGCCCTGCTGGCCC

AGGCGATGGGCGACCAAATCTGCGCATGAAGTTCCAGGGCGCCTTCCGCAAGG
GGGTGCCCAACCCCATCGATCTGCTGGAGTCCACCCTATATGAGTCCTCGGTGG
TGCCTGGGCCCAAGAAAGCACCCATGGACTCACTGTTTGACTACGGCACCTATC
GTCACCACTCCAGTGACAACAAGAGGTGGAGGAAGAAGATCATAGAGAAGCAG
5 CCGCAGAGCCCCAAAGCCCCTGCCCCTCAGCCGCCCCCATCCTCAAAGTCTTC
AACCGGCCTATCCTCTTTGACATCGTGTCCCGGGGCTCCACTGCTGACCTGGAC
GGGCTGCTCCCATTTCTTGCTGACCCACAAGAAACGCCTAACTGATGAGGAGTTT
CGAGAGCCATCTACGGGGAAGACCTGCCTGCCCAAGGCCTTGCTGAACCTGAG
CAATGGCCGCAACGACACCATCCCTGTGCTGCTGGACATCGCGGAGCGCACCG
10 GCAACATGCGGGAGTTCATTAACCTCGCCCTTCCGTGACATCTACTATCGAGGTC
AGACAGCCCTGCACATCGCCATTGAGCGTCGCTGCAAACACTACGTGGAACCTTC
TCGTGGCCCAGGGAGCTGATGTCCAAGGCCAGGCCCGTGGGCGCTTCTTCCAGC
CCAAGGATGAGGGGGGCTACTTCTACTTTGGGGAGCTGCCCTGTGCTGGCTG
CCTGCACCAACCAGCCCCACATTGTCAACTACCTGACGGAGAACCCCCACAAGA
15 AGGCGGACATGCGGCGCCAGGACTCGCGAGGCAACACAGTGCTGCATGCGCTG
GTGGCCATTGCTGACAACACCCGTGAGAACACCAAGTTTGTTACCAAGATGTAC
GACCTGCTGCTGCTCAAGTGTGCCCGCCTCTTCCCCGACAGCAACCTGGAGGCC
GTGCTCAACAACGACGGCCTCTCGCCCCTCATGATGGCTGCCAAGACGGGGCAA
GATTGGGATCTTTCAGCACATCATCCGGCGGGAGGTGACGGATGAGGACACAC
20 GGCACCTGTCCCGCAAGTTCAAGGACTGGGCCTATGGGCCAGTGTATTCCTCGC
TTTATGACCTCTCCTCCCTGGACACGTGTGGGGAAGAGGCCTCCGTGCTGGAGA
TCCTGGTGTACAACAGCAAGATTGAGAACCGCCACGAGATGCTGGCTGTGGAG
CCCATCAATGAACTGCTGCGGGACAAGTGGCGCAAGTTCGGGGCCGTCTCCTTC
TACATCAACGTGGTCTCCTACCTGTGTGCCATGGTCATCTTCACTCTCACCGCCT
25 ACTACCAGCCGCTGGAGGGCACACCGCCGTACCCTTACCGCACCAACGGTGGAC
TACCTGCGGCTGGCTGGCGAGGTCATTACGCTCTTCACTGGGGTCCTGTTCTTC
TTCACCAACATCAAAGACTTGTTTCATGAAGAAATGCCCTGGAGTGAATTCTCTC
TTCATTGATGGCTCCTTCCAGCTGCTCTACTTCATCTACTCTGTCTGGTGATCG
TCTCAGCAGCCCTCTACCTGGCAGGGATCGAGGCCTACCTGGCCGTGATGGTCT
30 TTGCCCTGGTCCTGGGCTGGATGAATGCCCTTTACTTCACCCGTGGGCTGAAGC
TGACGGGGGACCTATAGCATCATGATCCAGAAGATTCTCTTCAAGGACCTTTTCC
GATTCCTGCTCGTCTACTTGCTCTTCATGATCGGCTACGCTTCAGCCCTGGTCTC

CCTCCTGAACCCGTGTGCCAACATGAAGGTGTGCAATGAGGACCAGACCAACT
GCACAGTGCCCACTTACCCCTCGTGCCGTGACAGCGAGACCTTCAGCACCTTCC
TCCTGGACCTGTTTAAGCTGACCATCGGCATGGGCGACCTGGAGATGCTGAGCA
GCACCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCATCCTGCTGGTGACCTACATCATCCTCA
5 CCTTTGTGCTGCTCCTCAACATGCTCATTGCCCTCATGGGCGAGACAGTGGGCC
AGGTCTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAGCTGCAGTGGGCCACCAACCATC
CTGGACATTGAGCGCTCCTTCCCCGTATTCTGAGGAAGGCCTTCCGCTCTGGG
GAGATGGTCACCGTGGGCAAGAGCTCGGACGGCACTCCTGACCGCAGGTGGTG
CTTCAGGGTGGATGAGGTGAACTGGTCTCACTGGAACCAGAACTTGGGCATCA
10 TCAACGAGGACCCGGGCAAGAATGAGACCTACCAGTATTATGGCTTCTCGCATA
CCGTGGGCCGCCTCCGCAGGGATCGCTGGTCTCGGTGGTACCCCGCGTGGTG
GAACTGAACAAGAACTCGAACCCGGACGAGGTGGTGGTGCCTCTGGACAGCAT
GGGGAACCCCGCTGCGATGGCCACCAGCAGGGTTACCCCGCAAGTGGAGGA
CTGAGGACGCCCCGCTCTAGGGACTGCAGCCCAGCCCCAGCTTCTCTGCCCACT
15 CATTTCTAGTCCAGCCGCATTTACAGCAGTGCCTTCTGGGGTGTCCCCCACACC
CTGCTTTGGCCCCAGAGGCGAGGGACCAGTGGAGGTGCCAGGGAGGCCCCAGG
ACCCTGTGGTCCCCTGGCTCTGCCTCCCCACCCTGGGGTGGGGGCTCCCGGCCA
CCTGTCTTGCTCCTATGGAGTCACATAAGCCAACGCCAGAGCCCCTCCACCTCA
GGCCCCAGCCCCTGCCTCTCCATTATTTATTTGCTCTGCTCTCAGGAAGCGACG
20 TGACCCCTGCCCCAGCTGGAACCTGGCAGAGGCCTTAGGACCCCGTTCCAAGTG
CACTGCCCGGCCAAGCCCCAGCCTCAGCCTGCGCCTGAGCTGCATGCGCCACCA
TTTTTGGCAGCGTGGCAGCTTTGCAAGGGGCTGGGGCCCTCGGCGTGGGGCCA
TGCCTTCTGTGTGTTCTGTAGTGTCTGGGATTTGCCGGTGCTCAATAAATGTTTA
TTCATTGACGGTGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

25 oder eine Teilsequenz hiervon, eine Nukleinsäure, die an besagte Sequenz unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann, eine allele Variante oder eine funktionelle Variante von besagter Sequenz oder eine Variante der Nukleinsäure aufgrund des degenerativen Kodes umfaßt.

14. Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie die Sequenz

30 CTCTCACCGCCTACTACCAGCCGCTGGAGGGCACAATGGCGGATTCCAGCGAA
GGCCCCCGCGCGGGGCCCCGGGGAGGTGGCTGAGCTCCCCGGGGATGAGAGTGG
CACCCCAGGTGGGGAGGCTTTTCCTCTCTCCTCCCTGGCCAATCTGTTTGAGGG

GGAGGATGGCTCCCTTTTCGCCCTCACCGGCTGATGCCAGTCGCCCTGCTGGCCC
AGGCGATGGGCGACCAAATCTGCGCATGAAGTTCCAGGGCGCCTTCCGCAAGG
GGGTGCCCAACCCCATCGATCTGCTGGAGTCCACCCTATATGAGTCCTCGGTGG
TGCCTGGGCCCAAGAAAGCACCCATGGACTCACTGTTTGACTACGGCACCTATC
5 GTCACCACTCCAGTGACAACAAGAGGTGGAGGAAGAAGATCATAGAGAAGCAG
CCGCAGAGCCCCAAAGCCCCTGCCCCTCAGCCGCCCCCATCCTCAAAGTCTTC
AACCGGCCTATCCTCTTTGACATCGTGTCCCGGGGCTCCACTGCTGACCTGGAC
GGGCTGCTCCCATTCTTGCTGACCCACAAGAAACGCCTAACTGATGAGGAGTTT
CGAGAGCCATCTACGGGGAAGACCTGCCTGCCCAAGGCCTTGCTGAACCTGAG
10 CAATGGCCGCAACGACACCATCCCTGTGCTGCTGGACATCGCGGAGCGCACCG
GCAACATGCGGGAGTTCATTAACCTCGCCCTTCCGTGACATCTACTATCGAGGTC
AGACAGCCCTGCACATCGCCATTGAGCGTCGCTGCAAACACTACGTGGAACCTC
TCGTGGCCCAAGGAGCTGATGTCCACGCCAGGCCCGTGGGCGCTTCTTCCAGC
CCAAGGATGAGGGGGGCTACTTCTACTTTGGGGAGCTGCCCCTGTCGCTGGCTG
15 CCTGCACCAACAGCCCCACATTGTCAACTACCTGACGGAGAACCCCCACAAGA
AGGCGGACATGCGGGCGCCAGGACTCGCGAGGCAACACAGTGCTGCATGCGCTG
GTGGCCATTGCTGACAACACCCGTGAGAACACCAAGTTTGTTACCAAGATGTAC
GACCTGCTGCTGCTCAAGTGTGCCCCGCTCTTCCCCGACAGCAACCTGGAGGCC
GTGCTCAACAACGACGGCCTCTCGCCCCTCATGATGGCTGCCAAGACGGGCAA
20 GATTGGGATCTTTCAGCACATCATCCGGCGGGAGGTGACGGATGAGGACACAC
GGCACCTGTCCCGCAAGTTCAAGGACTGGGCCTATGGGCCAGTGTATTCCTCGC
TTTATGACCTCTCCTCCCTGGACACGTGTGGGGAAGAGGCCTCCGTGCTGGAGA
TCCTGGTGTACAACAGCAAGATTGAGAACCGCCACGAGATGCTGGCTGTGGAG
CCCATCAATGAACTGCTGCGGGACAAGTGGCGCAAGTTCGGGGCCGTCTCCTTC
25 TACATCAACGTGGTCTCCTACCTGTGTGCCATGGTCATCTTCACTCTCACCGCCT
ACTACCAGCCGCTGGAGGGCACACCGCCGTACCCTTACCGCACCAACGGTGGAC
TACCTGCGGCTGGCTGGCGAGGTCATTACGCTCTTCACTGGGGTCCTGTTCTTC
TTCACCAACATCAAAGACTTGTTTCATGAAGAAATGCCCTGGAGTGAATTCTCTC
TTCATTGATGGCTCCTTCCAGCTGCTCTACTTCATCTACTCTGTCCTGGTGATCG
30 TCTCAGCAGCCCTCTACCTGGCAGGGATCGAGGCCTACCTGGCCGTGATGGTCT
TTGCCCTGGTCTGGGCTGGATGAATGCCCTTTACTTCACCCGTGGGCTGAAGC
TGACGGGGACCTATAGCATCATGATCCAGAAGATTCTCTTCAAGGACCTTTTCC

GATTCCTGCTCGTCTACTTGCTCTTCATGATCGGCTACGCTTCAGCCCTGGTCTC
CCTCCTGAACCCGTGTGCCAACATGAAGGTGTGCAATGAGGACCAGACCAACT
GCACAGTGCCCACTTACCCCTCGTGCCGTGACAGCGAGACCTTCAGCACCTTCC
TCCTGGACCTGTTTAAGCTGACCATCGGCATGGGCGACCTGGAGATGCTGAGCA
5 GCACCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCATCCTGCTGGTGACCTACATCATCCTCA
CCTTTGTGCTGCTCCTCAACATGCTCATTGCCCTCATGGGCGAGACAGTGGGCC
AGGTCTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAGCTGCAGTGGGCCACCACCATC
CTGGACATTGAGCGCTCCTTCCCCGTATTCCTGAGGAAGGCCTTCCGCTCTGGG
GAGATGGTCACCGTGGGCAAGAGCTCGGACGGCACTCCTGACCGCAGGTGGTG
10 CTTCAGGGTGGATGAGGTGAACTGGTCTCACTGGAACCAGAACTTGGGCATCA
TCAACGAGGACCCGGGCAAGAATGAGACCTACCAGTATTATGGCTTCTCGCATA
CCGTGGGCCCGCCTCCGCAGGGATCGCTGGTCCTCGGTGGTACCCCGCGTGGTG
GAACTGAACAAGAACTCGAACCCGGACGAGGTGGTGGTGCCTCTGGACAGCAT
GGGGAACCCCGCTGCGATGGCCACCAGCAGGGTTACCCCGCAAGTGGAGGA
15 CTGAGGACGCCCCGCTCTAGGGACTGCAGCCCAGCCCCAGCTTCTCTGCCCACT
CATTTCTAGTCCAGCCGCATTTTCAGCAGTGCCTTCTGGGGTGTCCCCCACACC
CTGCTTTGGCCCCAGAGGCGAGGGACCAGTGGAGGTGCCAGGGAGGCCCCAGG
ACCCTGTGGTCCCCTGGCTCTGCCTCCCCACCCTGGGGTGGGGGCTCCCGGCCA
CCTGTCTTGCTCCTATGGAGTCACATAAGCCAACGCCAGAGCCCCTCCACCTCA
20 GGCCCCAGCCCCTGCCTCTCCATTATTTATTTGCTCTGCTCTCAGGAAGCGACG
TGACCCCTGCCCCAGCTGGAACCTGGCAGAGGCCTTAGGACCCCGTTCCAAGTG
CACTGCCCCGCCAAGCCCCAGCCTCAGCCTGCGCCTGAGCTGCATGCGCCACCA
TTTTTGGCAGCGTGGCAGCTTTGCAAGGGGCTGGGGCCCTCGGCGTGGGGCCA
TGCCTTCTGTGTGTTCTGTAGTGTCTGGGATTTGCCGGTGCTCAATAAATGTTTA
25 TTCATTGACGGTGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

hat.

15. Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie die Sequenz

ATGGCGGATTCCAGCGAAGGCCCGCGCGGGGCGGGGAGGTGGCTGAGCT
CCCCGGGGATGAGAGTGGCACCCCAGGTGGGGAGGCTTTTCCTCTCTCCTCCCT
30 GGCCAATCTGTTTGAGGGGGAGGATGGCTCCCTTTGCCCCTCACCGGCTGATGC
CAGTCGCCCTGCTGGCCCAGGCGATGGGCGACCAAATCTGCGCATGAAGTTCC
AGGGCGCCTTCCGCAAGGGGGTGCCCAACCCCATCGATCTGCTGGAGTCCACC

CTATATGAGTCCTCGGTGGTGCCTGGGCCCAAGAAAGCACCCATGGACTCACTG
TTTGACTACGGCACCTATCGTCACCACTCCAGTGACAACAAGAGGTGGAGGAA
GAAGATCATAGAGAAGCAGCCGCAGAGCCCCAAAGCCCCTGCCCCTCAGCCGC
CCCCCATCCTCAAAGTCTTCAACCGGCCTATCCTCTTTGACATCGTGTCCCGGG
5 GCTCCACTGCTGACCTGGACGGGCTGCTCCCATTTCTTGCTGACCCACAAGAAAC
GCCTAACTGATGAGGAGTTTCGAGAGCCATCTACGGGGAAGACCTGCCTGCCC
AAGGCCTTGCTGAACCTGAGCAATGGCCGCAACGACACCATCCCTGTGCTGCTG
GACATCGCGGAGCGCACCGGCAACATGCGGGAGTTCATTAACCTCGCCCTTCCGT
GACATCTACTATCGAGGTCAGACAGCCCTGCACATCGCCATTGAGCGTCGCTGC
10 AAACACTACGTGGAACCTTCTCGTGGCCCAGGGAGCTGATGTCCA_cGCCCAGGCC
CGTGGGCGCTTCTTCCAGCCCAAGGATGAGGGGGGCTACTTCTACTTTGGGGA
GCTGCCCCTGTCGCTGGCTGCCTGCACCAACCAGCCCCACATTGTCAACTACCT
GACGGAGAACCCCCACAAGAAGGCGGACATGCGGCGCCAGGACTCGCGAGGC
AACACAGTGCTGCATGCGCTGGTGGCCATTGCTGACAACACCCGTGAGAACAC
15 CAAGTTTGT_TACCAAGATGTACGACCTGCTGCTGCTCAAGTGTGCCCGCCTCTT
CCCCGACAGCAACCTGGAGGGCCGTGCTCAACAACGACGGCCTCTCGCCCCCTCAT
GATGGCTGCCAAGACGGGCAAGATTGGGATCTTTCAGCACATCATCCGGCGGG
AGGTGACGGATGAGGACACACGGCACCTGTCCCGCAAGTTCAAGGACTGGGCC
TATGGGCCAGTGTATTCTCGCTTTATGACCTCTCCTCCCTGGACACGTGTGGG
20 GAAGAGGCCTCCGTGCTGGAGATCCTGGTGTACAACAGCAAGATTGAGAACCG
CCACGAGATGCTGGCTGTGGAGCCCATCAATGAACTGCTGCGGGACAAGTGGC
GCAAGTTCGGGGCCGTCTCCTTCTACATCAACGTGGTCTCCTACCTGTGTGCCA
TGGTCATCTTCACTCTCACCGCCTACTACCAGCCGCTGGAGGGGCACACCGCCGT
ACCCTTACCGCACACGGTGGACTACCTGCGGCTGGCTGGCGAGGTCATTACGC
25 TCTTCACTGGGGTCCTGTTCTTCTTACCAACATCAAAGACTTGTTTCATGAAGA
AATGCCCTGGAGTGAATTCTCTCTTCAATTGATGGCTCCTTCCAGCTGCTCTACTT
CATCTACTCTGTCTGGTGATCGTCTCAGCAGCCCTCTACCTGGCAGGGATCGA
GGCCTACCTGGCCGTGATGGTCTTTGCCCTGGTCCTGGGCTGGATGAATGCCCT
TTACTTCACCCGTGGGCTGAAGCTGACGGGGACCTATAGCATCATGATCCAGAA
30 GATTCTCTTCAAGGACCTTTTCCGATTCTGCTCGTCTACTTGCTCTTCATGATC
GGCTACGCTTCAGCCCTGGTCTCCCTCCTGAACCCGTGTGCCAACATGAAGGTG
TGCAATGAGGACCAGACCAACTGCACAGTGCCCACTTACCCTCGTGCCGTGAC

AGCGAGACCTTCAGCACCTTCCTCCTGGACCTGTTTAAGCTGACCATCGGCATG
GGCGACCTGGAGATGCTGAGCAGCACCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCATCCTG
CTGGTGACCTACATCATCCTCACCTTTGTGCTGCTCCTCAACATGCTCATTGCCC
TCATGGGCGAGACAGTGGGCCAGGTCTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAG
5 CTGCAGTGGGCCACCACCATCCTGGACATTGAGCGCTCCTTCCCCGTATTCTTG
AGGAAGGCCTTCCGCTCTGGGGAGATGGTCACCGTGGGCAAGAGCTCGGACGG
CACTCCTGACCGCAGGTGGTGCTTCAGGGTGGATGAGGTGAACTGGTCTCACTG
GAACCAGAACTTGGGCATCATCAACGAGGACCCGGGCAAGAATGAGACCTACC
AGTATTATGGCTTCTCGCATACCGTGGGCCGCCTCCGCAGGGATCGCTGGTCCT
10 CGGTGGTACCCCGCGTGGTGGAAGTGAACAAGAACTCGAACCCGGACGAGGTG
GTGGTGCCTCTGGACAGCATGGGGAACCCCGCTGCGATGGCCACCAGCAGGG
TTACCCCGCAAGTGGAGGACTGAGGACGCCCCGCTCTAG

oder eine Teilsequenz hiervon, eine Nukleinsäure, die an besagte Sequenz unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann, eine allele Variante oder eine funktionelle Variante von
15 besagter Sequenz oder eine Variante der Nukleinsäure aufgrund des degenerativen Kodes umfaßt.

16. Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie die Sequenz

ATGGCGGATTCCAGCGAAGGCCCCCGCGCGGGGCCCCGGGGAGGTGGCTGAGCT
CCCCGGGGATGAGAGTGGCACCCCAGGTGGGGAGGCTTTTCCTCTCTCCTCCCT
20 GGCCAATCTGTTTGAGGGGGAGGATGGCTCCCTTTCGCCCTCACCGGCTGATGC
CAGTCGCCCTGCTGGCCCAGGCGATGGGCGACCAAATCTGCGCATGAAGTTCC
AGGGCGCCTTCCGCAAGGGGGTGCCCAACCCCATCGATCTGCTGGAGTCCACC
CTATATGAGTCCTCGGTGGTGCTGGGCCCAAGAAAGCACCCATGGACTCACTG
TTTGACTACGGCACCTATCGTCACCACTCCAGTGACAACAAGAGGTGGAGGAA
25 GAAGATCATAGAGAAGCAGCCGCAGAGCCCCAAAGCCCCTGCCCCTCAGCCGC
CCCCATCCTCAAAGTCTTCAACCGGCCTATCCTCTTTGACATCGTGTCCCGGG
GCTCCACTGCTGACCTGGACGGGCTGCTCCCATTTCTTGCTGACCCACAAGAAAC
GCCTAACTGATGAGGAGTTTCGAGAGCCATCTACGGGGAAGACCTGCCTGCCC
AAGGCCTTGCTGAACCTGAGCAATGGCCGCAACGACACCATCCCTGTGCTGCTG
30 GACATCGCGGAGCGCACCGGCAACATGCGGGAGTTCATTAAGTTCGCCCTTCCGT
GACATCTACTATCGAGGTCAGACAGCCCTGCACATCGCCATTGAGCGTCGCTGC
AAACACTACGTGGAAGTCTCGTGGCCCAGGGAGCTGATGTCCAAGCCCAGGCC

CGTGGGCGCTTCTTCCAGCCCAAGGATGAGGGGGGCTACTTCTACTTTGGGGA
GCTGCCCCCTGTCGCTGGCTGCCTGCACCAACCAGCCCCACATTGTCAACTACCT
GACGGAGAACCCCCACAAGAAGGCGGACATGCGGCGCCAGGACTCGCGAGGC
AACACAGTGCTGCATGCGCTGGTGGCCATTGCTGACAACACCCGTGAGAACAC
5 CAAGTTTGTACCAAGATGTACGACCTGCTGCTGCTCAAGTGTGCCCCGCCTCTT
CCCCGACAGCAACCTGGAGGCCGTGCTCAACAACGACGGCCTCTCGCCCCCTCAT
GATGGCTGCCAAGACGGGCAAGATTGGGATCTTTCAGCACATCATCCGGCGGG
AGGTGACGGATGAGGACACACGGCACCTGTCCCGCAAGTTCAAGGACTGGGCC
TATGGGCCAGTGTATTCTCGCTTTATGACCTCTCCTCCCTGGACACGTGTGGG
10 GAAGAGGCCTCCGTGCTGGAGATCCTGGTGTACAACAGCAAGATTGAGAACCG
CCACGAGATGCTGGCTGTGGAGCCCATCAATGAACTGCTGCGGGACAAGTGGC
GCAAGTTCGGGGCCGTCTCCTTCTACATCAACGTGGTCTCCTACCTGTGTGCCA
TGGTCATCTTCACTCTCACCGCCTACTACCAGCCGCTGGAGGGCACACCGCCGT
ACCCTTACCGCACACGGTGGACTACCTGCGGCTGGCTGGCGAGGTCATTACGC
15 TCTTCACTGGGGTCCTGTTCTTCTTACCAACATCAAAGACTTGTTTCATGAAGA
AATGCCCTGGAGTGAATTCTCTCTTCATTGATGGCTCCTTCCAGCTGCTCTACTT
CATCTACTCTGTCCTGGTGATCGTCTCAGCAGCCCTCTACCTGGCAGGGATCGA
GGCCTACCTGGCCGTGATGGTCTTTGCCCTGGTCTGGGCTGGATGAATGCCCT
TTACTTCACCCGTGGGCTGAAGCTGACGGGGACCTATAGCATCATGATCCAGAA
20 GATTCTCTTCAAGGACCTTTTCCGATTCTGCTCGTCTACTTGCTCTTCATGATC
GGCTACGCTTCAGCCCTGGTCTCCCTCCTGAACCCGTGTGCCAACATGAAGGTG
TGCAATGAGGACCAGACCAACTGCACAGTGCCCACTTACCCCTCGTGCCGTGAC
AGCGAGACCTTCAGCACCTTCCTCCTGGACCTGTTTAAGCTGACCATCGGCATG
GGCGACCTGGAGATGCTGAGCAGCACCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCATCCTG
25 CTGGTGACCTACATCATCCTCACCTTTGTGCTGCTCCTCAACATGCTCATTGCC
TCATGGGCGAGACAGTGGGCCAGGTCTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAG
CTGCAGTGGGCCACCACCATCCTGGACATTGAGCGCTCCTTCCCCGTATTCTTG
AGGAAGGCCTTCCGCTCTGGGGAGATGGTCAACGTGGGCAAGAGCTCGGACGG
CACTCCTGACCGCAGGTGGTGGCTTCAGGGTGGATGAGGTGAACTGGTCTCACTG
30 GAACCAGAACTTGGGCATCATCAACGAGGACCCGGGCAAGAATGAGACCTACC
AGTATTATGGCTTCTCGCATACCGTGGGCCGCTCCGCAGGGATCGCTGGTCCT
CGGTGGTACCCCGCGTGGTGGAACTGAACAAGAACTCGAACCCGGACGAGGTG

GTGGTGCCTCTGGACAGCATGGGGAACCCCCGCTGCGATGGCCACCAGCAGGG
TTACCCCCGCAAGTGGAGGACTGAGGACGCCCCGCTCTAG

hat.

17. Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie die Sequenz

5 GGCCACGCGTCGACTAGTACGGGGGGGGGGGGGGGGGGTGGCRGSRGGAKCAG
GACTCGGCCGGAGGGATCAGGAAGCGGCGGCGCTGCGCCCGCGTCCTGAGGCT
GAGAAGTACAAACAGATCTGGGTCCAGTATGGCAGATCCTGGTGATGGTCCCC
GTGCAGCGCCTGGGGAGGTGGCTGAGCCCCCTGGAGATGAGAGTGGTACCTCT
GGTGGGGAGGCCTTCCCCCTCTCTTCCCTGGCCAATCTGTTTGAGGGGGAGGAA
10 GGCTCCTCTTCTCTTTCCCCGGTGGATGCTAGCCGCCCTGCTGGCCCTGGCGAT
GGACGTCCAAACCTGCGTATGAAGTTCCAGGGCGCTTTCCGCAAGGGGGTTCCC
AACCCCATTTGACCTGTTGGAGTCCACCCGGTACGAGTCCTCAGTAGTGCCTGGG
CCCAAGAAAGCGCCCATGGATTCTTGTTCGACTACGGCACTTACCGTCACCAC
CCCAGTGACAACAAGAGATGGAGGAGAAAGGTCGTGGAGAAGCAGCCACAGA
15 GCCCCAAAGCTCCTGCACCCCAGCCACCCCCCATCCTCAAAGTCTTCAATCGGC
CCATCCTCTTTGACATTGTGTCCCGGGGCTCCACTGCGGACCTAGATGGACTGC
TCTCCTTCTTGTGACCCACAAGAAGCGCCTGACTGATGAGGAGTTCCGGGAGC
CGTCCACGGGGAAGACCTGCCTGCCCAAGGCGCTGCTGAACCTAAGCAACGGG
CGCAACGACACCATCCCGGTGTTGCTGGACATTGCGGAGCGCACCGGCAACAT
20 GCGTGAATTCATCAACTCGCCCTTCAGAGACATCTACTACCGAGGCCAGACATC
CCTGCACATTGCCATCGAACGGCGCTGCAAGCACTACGTGGAGCTGCTGGTGG
CCCAGGGAGCCGACGTGCACGCCAGGCCCCGCGGCCGCTTCTTCCAGCCCAAG
GATGAGGGAGGCTACTTCTACTTTGGGGAGCTGCCCTTGTCCCTGGCAGCCTGC
ACCAACCAGCCGCACATCGTCAACTACCTGACAGAGAACCCTCACAAGAAAGC
25 TGACATGAGGCGACAGGACTCGAGGGGGAACACGGTGCTGCACGCGCTGGTGG
CCATCGCCGACAACACCCGAGAGAAACACCAAGTTTGTCACCAAGATGTACGAC
CTGCTGCTTCTCAAGTGTTACGCCTCTTCCCCGACAGCAACCTGGAGACAGTT
CTCAACAATGATGGCCTTTTCGCCTCTCATGATGGCTGCCAAGACAGGCAAGATC
GGGGTCTTTCAGCACATCATCCGACGTGAGGTGACAGATGAGGACACCCGGCA
30 TCTGTCTCGCAAGTTCAAGGACTGGGCCTATGGGCCTGTGTATTCTTCTCTCTA
CGACCTCTCCTCCCTGGACACATGCGGGGAGGAGGTGTCCGTGCTGGAGATCCT
GGTGTACAACAGCAAGATCGAGAACCGCCATGAGATGCTGGCTGTAGAGCCCA

TTAACGAACTGTTGAGAGACAAGTGGCGTAAGTTTGGGGCTGTGTCCTTCTACA
TCAACGTGGTCTCCTATCTGTGTGCCATGGTCATCTTCACCCTCACCGCCTACTA
TCAGCCACTGGAGGGCACGCCACCCTACCCTTACCGGACCACAGTGGACTACCT
GAGGCTGGCTGGCGAGGTCATCACGCTCTTCACAGGAGTCCTGTTCTTCTTTAC
5 CAGTATCAAAGACTTGTTACGAAGAAATGCCCTGGAGTGAATTCTCTCTTCGT
CGATGGCTCCTTCCAGTTACTCTACTTCATCTACTCTGTGCTGGTGGTTGTCTCT
GCGGCGCTCTACCTGGCTGGGATCGAGGCCTACCTGGCTGTGATGGTCTTTGCC
CTGGTCCTGGGCTGGATGAATGCGCTGTACTTCACGCGCGGGTTGAAGCTGAC
GGGGACCTACAGCATCATGATTCAGAAGATCCTCTTCAAAGACCTCTTCCGCTT
10 CCTGCTTGTTGACCTGCTCTTCATGATCGGCTATGCCTCAGCCCTGGTCACCCTC
CTGAATCCGTGCACCAACATGAAGGTCTGTGACGAGGACCAGAGCAACTGCAC
GGTGCCACGTATCCTGCGTGCCGCGACAGCGAGACCTTCAGCGCCTTCCTCCT
GGACCTCTTCAAGCTCACCATCGGCATGGGAGACCTGGAGATGCTGAGCAGCG
CCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCCTCCTGCTGGTCACCTACATCATCCTCACCTT
15 CGTGCTCCTGTTGAACATGCTTATCGCCCTCATGGGTGAGACCGTGGGCCAGGT
GTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAGTTGCAGTGGGCCACCACCATCCTGG
ACATCGAGCGTTCCTTCCCTGTGTTCTGAGGAAGGCCTTCCGCTCCGGAGAGA
TGGTGACTGTGGGCAAGAGCTCAGATGGCACTCCGGACCGCAGGTGGTGCTTC
AGGGTGGACGAGGTGAACTGGTCTCACTGGAACCAGAACTTGGGCATCATTA
20 CGAGGACCCTGGCAAGAGTGAAATCTACCAGTACTATGGCTTCTCCCACACCGT
GGGGCGCCTTCGTAGGGATCGTTGGTCCTCGGTGGTGCCCCGCGTAGTGGAGC
TGAACAAGAACTCAAGCGCAGATGAAGTGGTGGTACCCCTGGATAACCTAGGG
AACCCCAACTGTGACGGCCACCAGCAGGGCTACGCTCCCAAGTGGAGGACGGA
CGATGCCCCACTGTAGGGGCGGTGCCAGAGCTCGCACAGATAGTCCAGGCTTG
25 GCCTTCGCTCCACCTACATTTAGGCATTTGTCCGGTGTCTTCCCACACCCGCAT
GGGACCTTGGAGGTGAGGGCCTCTGTGGCGACTCTGTGGAGGCCCCAGGACCC
TCTGGTCCCCGCCAAGACTTTTGCCTTCAGCTCTACTCCCCACATGGGGGGGCG
GGGCTCCTGGCTACCTGTCTCGCTCGCTCCCATGGAGTCACCTAAGCCAGCACA
AGGCCCCCTCTCCTCGAAAGGCTCAGGCCCCATCCCTCTTGTGTATTATTTATTGC
30 TCTCCTCAGGAAAATGGGGTGGCAGGAGTCCACCCGCGGCTGGAACCTGGCCA
GGGCTGAAGCTCATGCAGGGACGCTGCAGCTCCGACCTGCCACAGATCTGACC
TGCTGCAGCCCTGGCTAGTGTGGGTCTTCTGTACTTTGAAGAGATCGGGGCCGC

TGGTGCTCAATAAATGTTTATTCTCGGTGGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AA
AA

oder eine Teilsequenz hiervon, eine Nukleinsäure, die an besagte Sequenz unter stringenten
5 Bedingungen hybridisieren kann, eine allele Variante oder eine funktionelle Variante von
besagter Sequenz oder eine Variante der Nukleinsäure aufgrund des degenerativen Kodes
umfaßt, worin R ein A oder G, M ein A oder C, S ein C oder G, Y ein C oder T, K ein G
oder T und W ein A oder T sein kann.

18. Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie die Sequenz

10 GGCCACGCGTCGACTAGTACGGGGGGGGGGGGGGGGGGTGGCRGSRGGAKCAG
GACTCGGCCGGAGGGATCAGGAAGCGGCGGCGCTGCGCCCGCGTCCTGAGGCT
GAGAAGTACAAACAGATCTGGGTCCAGTATGGCAGATCCTGGTGATGGTCCCC
GTGCAGCGCCTGGGGAGGTGGCTGAGCCCCCTGGAGATGAGAGTGGTACCTCT
GGTGGGGAGGCCTTCCCCCTCTCTTCCCTGGCCAATCTGTTTGAGGGGGAGGAA
15 GGCTCCTCTTCTCTTTCCCCGGTGGATGCTAGCCGCCCTGCTGGCCCTGGCGAT
GGACGTCCAAACCTGCGTATGAAGTTCCAGGGCGCTTTCCGCAAGGGGGTTCCC
AACCCATTGACCTGTTGGAGTCCACCCGGTACGAGTCCTCAGTAGTGCCTGGG
CCCAAGAAAGCGCCCATGGATTCTTGTTCGACTACGGCACTTACCGTCACCAC
CCCAGTGACAACAAGAGATGGAGGAGAAAGGTCGTGGAGAAGCAGCCACAGA
20 GCCCCAAAGCTCCTGCACCCCAGCCACCCCCCATCCTCAAAGTCTTCAATCGGC
CCATCCTCTTTGACATTGTGTCCCGGGGCTCCACTGCGGACCTAGATGGACTGC
TCTCCTTCTTGTTGACCCACAAGAAGCGCCTGACTGATGAGGAGTTCCGGGAGC
CGTCCACGGGGAAGACCTGCCTGCCAAGGCGCTGCTGAACCTAAGCAACGGG
CGCAACGACACCATCCCGGTGTTGCTGGACATTGCGGAGCGCACCGGCAACAT
25 GCGTGAATTCATCAACTCGCCCTTCAGAGACATCTACTACCGAGGCCAGACATC
CCTGCACATTGCCATCGAACGGCGCTGCAAGCACTACGTGGAGCTGCTGGTGG
CCCAGGGAGCCGACGTGCACGCCAGGCCCGCGGCCGCTTCTTCCAGCCCAAG
GATGAGGGAGGCTACTTCTACTTTGGGGAGCTGCCCTTGTCCCTGGCAGCCTGC
ACCAACCAGCCGCACATCGTCAACTACCTGACAGAGAACCCTCACAAGAAAGC
30 TGACATGAGGCGACAGGACTCGAGGGGGAACACGGTGCTGCACGCGCTGGTGG
CCATCGCCGACAACACCCGAGAGAACACCAAGTTTGTACCAAGATGTACGAC
CTGCTGCTTCTCAAGTGTTACGCCTCTTCCCCGACAGCAACCTGGAGACAGTT

CTCAACAATGATGGCCTTTTCGCCTCTCATGATGGCTGCCAAGACAGGCAAGATC
GGGGTCTTTTCAGCACATCATCCGACGTGAGGTGACAGATGAGGACACCCGGCA
TCTGTCTCGCAAGTTCAAGGACTGGGCCTATGGGCCTGTGTATTCTTCTCTCTA
CGACCTCTCCTCCCTGGACACATGCGGGGAGGAGGTGTCCGTGCTGGAGATCCT
5 GGTGTACAACAGCAAGATCGAGAACCGCCATGAGATGCTGGCTGTAGAGCCCA
TTAACGAACTGTTGAGAGACAAGTGGCGTAAGTTTGGGGCTGTGTCCTTCTACA
TCAACGTGGTCTCCTATCTGTGTGCCATGGTCATCTTCACCCCTCACCGCCTACTA
TCAGCCACTGGAGGGCACGCCACCCTACCCTTACCGGACCACAGTGGACTACCT
GAGGCTGGCTGGCGAGGTCATCACGCTCTTCACAGGAGTCCTGTTCTTCTTTAC
10 CAGTATCAAAGACTTGTTACGAAGAAATGCCCTGGAGTGAATTCTCTCTTCGT
CGATGGCTCCTTCCAGTTACTCTACTTCATCTACTCTGTGCTGGTGGTTGTCTCT
GCGGCGCTCTACCTGGCTGGGATCGAGGCCTACCTGGCTGTGATGGTCTTTGCC
CTGGTCCTGGGCTGGATGAATGCGCTGTACTTCACGCGCGGGTTGAAGCTGAC
GGGGACCTACAGCATCATGATTCAGAAGATCCTCTTCAAAGACCTCTTCCGCTT
15 CCTGCTTGTGTACCTGCTCTTCATGATCGGCTATGCCTCAGCCCTGGTCACCCTC
CTGAATCCGTGCACCAACATGAAGGTCTGTGACGAGGACCAGAGCAACTGCAC
GGTGCCACGTATCCTGCGTGCCGCGACAGCGAGACCTTCAGCGCCTTCCTCCT
GGACCTCTTCAAGCTCACCATCGGCATGGGAGACCTGGAGATGCTGAGCAGCG
CCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCCTCCTGCTGGTCACCTACATCATCCTCACCTT
20 CGTGCTCCTGTTGAACATGCTTATCGCCCTCATGGGTGAGACCGTGGGCCAGGT
GTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAGTTGCAGTGGGCCACCACCATCCTGG
ACATCGAGCGTTCCTTCCCTGTGTTCTGAGGAAGGCCTTCCGCTCCGGAGAGA
TGGTGACTGTGGGCAAGAGCTCAGATGGCACTCCGGACCGCAGGTGGTGCTTC
AGGGTGGACGAGGTGAACTGGTCTCACTGGAACCAGAACTTGGGCATCATTA
25 CGAGGACCCTGGCAAGAGTGAAATCTACCAGTACTATGGCTTCTCCACACCGT
GGGGCGCCTTCGTAGGGATCGTTGGTCCTCGGTGGTGCCCCGCGTAGTGGAGC
TGAACAAGAACTCAAGCGCAGATGAAGTGGTGGTACCCCTGGATAACCTAGGG
AACCCCAACTGTGACGGCCACCAGCAGGGCTACGCTCCCAAGTGGAGGACGGA
CGATGCCCCACTGTAGGGGCGGTGCCAGAGCTCGCACAGATAGTCCAGGCTTG
30 GCCTTCGCTCCACCTACATTTAGGCATTTGTCCGGTGTCTTCCACACCCGCAT
GGGACCTTGGAGGTGAGGGCCTCTGTGGCGACTCTGTGGAGGCCCCAGGACCC
TCTGGTCCCCGCCAAGACTTTTGCCTTCAGCTCTACTCCCCACATGGGGGGGCG

GGGCTCCTGGCTACCTGTCTCGCTCGCTCCCATGGAGTCACCTAAGCCAGCACA
AGGCCCTCTCCTCGAAAGGCTCAGGCCCATCCCTCTTGTGTATTATTTATTGC
TCTCCTCAGGAAAATGGGGTGGCAGGAGTCCACCCGCGGCTGGAACCTGGCCA
GGGCTGAAGCTCATGCAGGGACGCTGCAGCTCCGACCTGCCACAGATCTGACC
5 TGCTGCAGCCCTGGCTAGTGTGGGTCTTCTGTACTTTGAAGAGATCGGGGCCGC
TGGTGCTCAATAAATGTTTATTCTCGGTGGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AA
AA

10 hat, worin R ein A oder G, M ein A oder C, S ein C oder G, Y ein C oder T, K ein G oder
T und W ein A oder T sein kann.

19. Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie die Sequenz

ATGGCAGATCCTGGTGATGGTCCCCGTGCAGCGCCTGGGGAGGTGGCTGAGCC
CCCTGGAGATGAGAGTGGTACCTCTGGTGGGGAGGCCCTCCCCCTCTCTTCCCT
GGCCAATCTGTTTGAGGGGGAGGAAGGCTCCTCTTCTCTTTCCCCGGTGGATGC
15 TAGCCGCCCTGCTGGCCCTGGCGATGGACGTCCAAACCTGCGTATGAAGTTCCA
GGGCGCTTTCCGCAAGGGGGTTCCCAACCCCATTGACCTGTTGGAGTCCACCCG
GTACGAGTCCTCAGTAGTGCCTGGGCCCCAAGAAAGCGCCCATGGATTCCTTGTT
CGACTACGGCACTTACCGTCACCACCCAGTGACAACAAGAGATGGAGGAGAA
AGGTCGTGGAGAAGCAGCCACAGAGCCCCAAAGCTCCTGCACCCAGCCACCC
20 CCCATCCTCAAAGTCTTCAATCGGCCCATCCTCTTTGACATTGTGTCCCGGGGCT
CCACTGCGGACCTAGATGGACTGCTCTCCTTCTTGTTGACCCACAAGAAGCGCC
TGACTGATGAGGAGTTCCGGGAGCCGTCCACGGGGAAGACCTGCCTGCCCAAG
GCGCTGCTGAACCTAAGCAACGGGCGCAACGACACCATCCCGGTGTTGCTGGA
CATTGCGGAGCGCACCGGCAACATGCGTGAATTCATCAACTCGCCCTTCAGAGA
25 CATCTACTACCGAGGCCAGACATCCCTGCACATTGCCATCGAACGGCGCTGCAA
GCACTACGTGGAGCTGCTGGTGGCCCAGGGAGCCGACGTGCACGCCCAGGCCC
GCGGCCGCTTCTTCCAGCCCAAGGATGAGGGAGGCTACTTCTACTTTGGGGAGC
TGCCCTTGTCCTTGGCAGCCTGCACCAACCAGCCGCACATCGTCAACTACCTGA
CAGAGAACCCTCACAAGAAAGCTGACATGAGGCGACAGGACTCGAGGGGGAAC
30 ACGGTGCTGCACGCGCTGGTGGCCATCGCCGACAACACCCGAGAGAACACCAA
GTTTGTACCAAGATGTACGACCTGCTGCTTCTCAAGTGTTACGCCTCTTCCCC
GACAGCAACCTGGAGACAGTTCTCAACAATGATGGCCTTTCGCCTCTCATGATG

GCTGCCAAGACAGGCAAGATCGGGGTCTTTCAGCACATCATCCGACGTGAGGT
GACAGATGAGGACACCCGGCATCTGTCTCGCAAGTTCAAGGACTGGGCCTATG
GGCCTGTGTATTCTTCTCTCTACGACCTCTCCTCCCTGGACACATGCGGGGAGG
AGGTGTCCGTGCTGGAGATCCTGGTGTACAACAGCAAGATCGAGAACCGCCAT
5 GAGATGCTGGCTGTAGAGCCCATTAAACGAACTGTTGAGAGACAAGTGGCGTAA
GTTTGGGGCTGTGTCCTTCTACATCAACGTGGTCTCCTATCTGTGTGCCATGGT
CATCTTCACCCTCACCGCCTACTATCAGCCACTGGAGGGCAGCCACCCTACCC
TTACCGGACCACAGTGGACTACCTGAGGCTGGCTGGCGAGGTCATCACGCTCTT
CACAGGAGTCCTGTTCTTCTTTACCAGTATCAAAGACTTGTTACGAAGAAATG
10 CCCTGGAGTGAATTCTCTCTTCGTCGATGGCTCCTTCCAGTTACTCTACTTCATC
TACTCTGTGCTGGTGGTTGTCTCTGCGGCGCTCTACCTGGCTGGGATCGAGGCC
TACCTGGCTGTGATGGTCTTTGCCCTGGTCCTGGGCTGGATGAATGCGCTGTAC
TTCACGCGCGGGTTGAAGCTGACGGGGACCTACAGCATCATGATTCAGAAGAT
CCTCTTCAAAGACCTCTTCCGCTTCTGCTTGTGTACCTGCTCTTCATGATCGGC
15 TATGCCTCAGCCCTGGTCACCCTCCTGAATCCGTGCACCAACATGAAGGTCTGT
GACGAGGACCAGAGCAACTGCACGGTGCCACGTATCCTGCGTGCCGCGACAG
CGAGACCTTCAGCGCCTTCTCCTGGACCTCTTCAAGCTCACCATCGGCATGGG
AGACCTGGAGATGCTGAGCAGCGCCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCCTCCTGCT
GGTCACCTACATCATCCTCACCTTCGTGCTCCTGTTGAACATGCTTATCGCCCTC
20 ATGGGTGAGACCGTGGGCCAGGTGTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAGTT
GCAGTGGGCCACCACCATCCTGGACATCGAGCGTTCCTTCCCTGTGTTCTGAG
GAAGGCCTTCCGCTCCGGAGAGATGGTGACTGTGGGCAAGAGCTCAGATGGCA
CTCCGGACCGCAGGTGGTGCTTCAGGGTGGACGAGGTGAACTGGTCTCACTGG
AACCAGAACTTGGGCATCATTAAACGAGGACCCTGGCAAGAGTGAAATCTACCA
25 GTACTATGGCTTCTCCCACACCGTGGGGCGCCTTCGTAGGGATCGTTGGTCCTC
GGTGGTGCCCCGCGTAGTGGAGCTGAACAAGAACTCAAGCGCAGATGAAGTGG
TGGTACCCCTGGATAACCTAGGGAACCCCAACTGTGACGGCCACCAGCAGGGC
TACGCTCCCAAGTGGAGGACGGACGATGCCCCACTGTAG

oder eine Teilsequenz hiervon, eine Nukleinsäure, die an besagte Sequenz unter stringenten
30 Bedingungen hybridisieren kann, eine allele Variante oder eine funktionelle Variante von
besagter Sequenz oder eine Variante der Nukleinsäure aufgrund des degenerativen Kodes
umfaßt.

20. Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie die Sequenz

ATGGCAGATCCTGGTGATGGTCCCCGTGCAGCGCCTGGGGAGGTGGCTGAGCC
CCCTGGAGATGAGAGTGGTACCTCTGGTGGGGAGGCCTTCCCCCTCTCTTCCCT
GGCCAATCTGTTTGAGGGGGAGGAAGGCTCCTCTTCTCTTTCCCCGGTGGATGC
5 TAGCCGCCCTGCTGGCCCTGGCGATGGACGTCCAAACCTGCGTATGAAGTTCCA
GGGCGCTTTCCGCAAGGGGGTTCCCAACCCCATTGACCTGTTGGAGTCCACCCG
GTACGAGTCCTCAGTAGTGCCTGGGCCCAAGAAAGCGCCCATGGATTCTTGT
CGACTACGGCACTTACCGTCACCACCCAGTGACAACAAGAGATGGAGGAGAA
AGGTCGTGGAGAAGCAGCCACAGAGCCCCAAAGCTCCTGCACCCAGCCACCC
10 CCCATCCTCAAAGTCTTCAATCGGCCATCCTCTTTGACATTGTGTCCCGGGGCT
CCACTGCGGACCTAGATGGACTGCTCTCCTTCTTGTGACCCACAAGAAGCGCC
TGA CTGATGAGGAGTTCCGGGAGCCGTCCACGGGGAAGACCTGCCTGCCCAAG
GCGCTGCTGAACCTAAGCAACGGGCGCAACGACACCATCCCGGTGTTGCTGGA
CATTGCGGAGCGCACCGGCAACATGCGTGAATTCATCAACTCGCCCTTCAGAGA
15 CATCTACTACCGAGGCCAGACATCCCTGCACATTGCCATCGAACGGCGCTGCAA
GCACTACGTGGAGCTGCTGGTGGCCAGGGAGCCGACGTGCACGCCCAGGCCC
GCGGCCGCTTCTTCCAGCCCAAGGATGAGGGAGGCTACTTCTACTTTGGGGAGC
TGCCCTTGTCCTTGGCAGCCTGCACCAACCAGCCGCACATCGTCAACTACCTGA
CAGAGAACCCTCACAAGAAAGCTGACATGAGGCGACAGGACTCGAGGGGGAAC
20 ACGGTGCTGCACGCGCTGGTGGCCATCGCCGACAACACCCGAGAGAACACCAA
GTTTGTCACCAAGATGTACGACCTGCTGCTTCTCAAGTGTTACGCCTCTTCCCC
GACAGCAACCTGGAGACAGTTCTCAACAATGATGGCCTTTCGCCTCTCATGATG
GCTGCCAAGACAGGCAAGATCGGGGTCTTTCAGCACATCATCCGACGTGAGGT
GACAGATGAGGACACCCGGCATCTGTCTCGCAAGTTCAAGGACTGGGCCTATG
25 GGCCTGTGTATTCTTCTCTCTACGACCTCTCCTCCCTGGACACATGCGGGGAGG
AGGTGTCCGTGCTGGAGATCCTGGTGTACAACAGCAAGATCGAGAACCGCCAT
GAGATGCTGGCTGTAGAGCCCATTAACGAACTGTTGAGAGACAAGTGGCGTAA
GTTTGGGGCTGTGTCTTCTACATCAACGTGGTCTCCTATCTGTGTGCCATGGT
CATCTTCACCCTCACCGCCTACTATCAGCCACTGGAGGGGCACGCCACCCTACCC
30 TTACCGGACCACAGTGGACTACCTGAGGCTGGCTGGCGAGGTCATCACGCTCTT
CACAGGAGTCCTGTTCTTCTTTACCAGTATCAAAGACTTGTTACGAAGAAATG
CCCTGGAGTGAATTCTCTCTTCGTCGATGGCTCCTTCCAGTTACTCTACTTCATC

TACTCTGTGCTGGTGGTTGTCTCTGCGGCGCTCTACCTGGCTGGGATCGAGGCC
TACCTGGCTGTGATGGTCTTTGCCCTGGTCCTGGGCTGGATGAATGCGCTGTAC
TTCACGCGCGGGTTGAAGCTGACGGGGACCTACAGCATCATGATTCAGAAGAT
CCTCTTCAAAGACCTCTTCCGCTTCTGCTTGTGTACCTGCTCTTCATGATCGGC
5 TATGCCTCAGCCCTGGTCACCCTCCTGAATCCGTGCACCAACATGAAGGTCTGT
GACGAGGACCAGAGCAACTGCACGGTGCCACGTATCCTGCGTGCCGCGACAG
CGAGACCTTCAGCGCCTTCCTCCTGGACCTCTTCAAGCTCACCATCGGCATGGG
AGACCTGGAGATGCTGAGCAGCGCCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCCTCCTGCT
GGTCACCTACATCATCCTCACCTTCGTGCTCCTGTTGAACATGCTTATCGCCCTC
10 ATGGGTGAGACCGTGGGCCAGGTGTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAGTT
GCAGTGGGCCACCACCATCCTGGACATCGAGCGTTCCTTCCCTGTGTTCCCTGAG
GAAGGCCTTCCGCTCCGGAGAGATGGTGACTGTGGGCAAGAGCTCAGATGGCA
CTCCGGACCGCAGGTGGTGCTTCAGGGTGGACGAGGTGAACTGGTCTCACTGG
AACCAGAACTTGGGCATCATTAACGAGGACCCTGGCAAGAGTGAAATCTACCA
15 GTACTATGGCTTCTCCCACACCGTGGGGCGCCTTCGTAGGGATCGTTGGTCCTC
GGTGGTGCCCCGCGTAGTGAGCTGAACAAGAAGTCAAGCGCAGATGAAGTGG
TGGTACCCCTGGATAACCTAGGGAACCCCAACTGTGACGGCCACCAGCAGGGC
TACGCTCCCAAGTGGAGGACGGACGATGCCCCACTGTAG

hat.

- 20 21. Rekombinanter Vektor, dadurch gekennzeichnet, daß er eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 20 enthält.
22. Rekombinanter Vektor nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, daß er ein Expressionsvektor ist.
23. Wirt, dadurch gekennzeichnet, daß er einen Vektor nach Anspruch 21 oder 22 enthält.
- 25 24. Wirt nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, daß er eine eukaryontische Wirtszelle ist.
25. Wirt nach Anspruch 23 oder 24, dadurch gekennzeichnet, daß er eine Insektenzelle ist.
26. Wirt nach einem der Ansprüche 23 bis 25, dadurch gekennzeichnet, daß er eine Sf9-, HEK293- oder HeLa- Zelle ist.
- 30 27. Wirt nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, daß er ein Bakteriophage ist.
28. Wirt nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, daß er eine prokaryontische Wirtszelle ist.

29. Polypeptid, dadurch gekennzeichnet, daß es durch eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 20 kodiert wird, oder ein Fragment, eine funktionelle Variante, eine allele Variante, eine Untereinheit, eine Variante aufgrund des degenerativen Nukleinsäure-Kodes, ein chemisches Derivat hiervon, ein Fusionsprotein mit besagtem Polypeptid oder eine Glykosilierungs-Variante hiervon.
30. Polypeptid nach Anspruch 29, dadurch gekennzeichnet, daß es ein Fragment des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 ist.
31. Polypeptid nach einem der Ansprüche 29 oder 30, dadurch gekennzeichnet, daß es eine funktionelle Variante des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 ist.
32. Polypeptid nach einem der Ansprüche 29 bis 31, dadurch gekennzeichnet, daß es eine allele Variante des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 ist.
33. Polypeptid nach einem der Ansprüche 29 bis 32, dadurch gekennzeichnet, daß es eine Untereinheit des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 ist.
34. Polypeptid nach einem der Ansprüche 29 bis 33, dadurch gekennzeichnet, daß es eine Variante des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 aufgrund des degenerativen Nukleinsäure-Kodes ist.
35. Polypeptid nach einem der Ansprüche 29 bis 34, dadurch gekennzeichnet, daß es ein chemisches Derivat des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 ist.
36. Polypeptid nach einem der Ansprüche 29 bis 35, dadurch gekennzeichnet, daß es ein Fusionsprotein aus dem nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 und einem weiteren Protein ist.
37. Polypeptid nach einem der Ansprüche 25 bis 36, dadurch gekennzeichnet, daß es eine Glykosilierungs-Variante des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 ist.
38. Verfahren zur Herstellung von Polypeptiden nach einem der Ansprüche 29 bis 37, dadurch gekennzeichnet, daß ein Wirt nach einem der Ansprüche 23 bis 28 kultiviert wird und besagtes Polypeptid isoliert wird.
39. Antikörperprotein, dadurch gekennzeichnet, daß es spezifisch für ein Polypeptid nach einem der Ansprüche 29 bis 37 ist.
40. Verfahren zur Herstellung von einem Antikörperprotein nach Anspruch 39, dadurch gekennzeichnet, daß es die folgenden Schritte umfaßt: Ein Wirt ausgewählt aus einer eukaryontischen oder prokaryontischen Zelle, welcher einen oder mehrere Vektoren mit einer oder mehreren Nukleinsäuren spezifisch für das Antikörperprotein enthält, wird

unter Bedingungen, unter denen besagtes Antikörperprotein durch besagte Wirtszelle exprimiert wird, kultiviert, und besagtes Antikörperprotein wird isoliert.

41. Verwendung eines Polypeptides nach einem der Ansprüche 29 bis 37 zum Auffinden von Antagonisten, Agonisten oder Modulatoren besagter Polypeptide.

5 42. Verwendung eines Wirtes nach einem der Ansprüche nach einem der Ansprüche 23 bis 28 zum Auffinden von Blocker, Aktivatoren oder Modulatoren von OTRPC4 Kanälen.

43. Verfahren zum Auffinden von Blocker, Aktivatoren oder Modulatoren von OTRPC4, dadurch gekennzeichnet, daß ein Wirt nach einem der Ansprüche 23 bis 28 mit einer Testsubstanz inkubiert wird.

10 44. Verfahren nach Anspruch 43, dadurch gekennzeichnet, daß ein Membranstrom gemessen wird, besagter Membranstrom mit einem Membranstrom verglichen wird, der bei besagtem Wirt nach Inkubation mit einer bekannten Kontrollsubstanz oder in Abwesenheit der Testsubstanz gemessen wird.

45. Verfahren nach einem der Ansprüche 43 oder 44, dadurch gekennzeichnet, daß besagter 15 Blocker an einen Kanal gebunden ist, besagter Wirt mit einer Testsubstanz inkubiert wird und die Verdrängung des an den Kanal gebundenen Blockers oder Aktivators durch die Testsubstanz gemessen wird.

46. Verfahren nach einem der Ansprüche 43 bis 45, dadurch gekennzeichnet, daß ein Wirt nach einem der Ansprüche 23 bis 28 mit einer Testsubstanz inkubiert wird, die 20 intrazelluläre Menge eines divalenten Kationes bestimmt wird und besagte Menge des divalenten Kationes mit der Menge besagten divalenten Kationes verglichen wird, die bei der Inkubation besagten Wirtes mit einer bekannten Kontrolle oder in der Abwesenheit der Testsubstanz gemessen wird.

47. Verfahren nach einem der Ansprüche 43 bis 46, dadurch gekennzeichnet, daß besagtes 25 Verfahren ein Hochdurchsatzmusterungstest (HTS) oder ein Ultrahochdurchsatzmusterungstest (UHTS) ist.

48. Aktivator von OTRPC4, auffindbar mit einem Verfahren nach Anspruch 43 bis 47.

49. Blocker von OTRPC4, auffindbar mit einem Verfahren nach Anspruch 43 bis 47.

50. Modulator von OTRPC4, auffindbar mit einem Verfahren nach Anspruch 43 bis 47.

30 51. Anti-Sinn-Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie an einen Teil einer Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 20 unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann.

52. Anti-Sinn-Nukleinsäure nach Anspruch 51, dadurch gekennzeichnet, daß sie ein Ribozym ist.
53. Pharmazeutische Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 20 sowie pharmazeutisch akzeptable Träger- oder Hilfsstoffe enthält.
54. Pharmazeutische Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine Anti-Sinn-Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 51 bis 52 sowie pharmazeutisch akzeptable Träger- oder Hilfsstoffe enthält.
55. Pharmazeutische Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet, daß sie ein Polypeptid nach einem der Ansprüche 29 bis 37 sowie pharmazeutisch akzeptable Träger- oder Hilfsstoffe enthält.
56. Pharmazeutische Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet, daß sie einen Vektor nach einem der Ansprüche 21 bis 22 sowie pharmazeutisch akzeptable Träger- oder Hilfsstoffe enthält.
57. Pharmazeutische Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet, daß sie einen Wirt nach einem der Ansprüche 23 bis 28 sowie pharmazeutisch akzeptable Träger- oder Hilfsstoffe enthält.
58. Verwendung einer Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 20 zur Herstellung eines Medikamentes für die Behandlung von einer Krankheit ausgewählt aus der Gruppe von Diabetes, Hyperlipidämie, Hyperproteinämie, Hypertonus, Schlaganfall, Niereninsuffizienz, Schock sowie weiteren pathophysiologischen Zuständen, die durch Hyper- und Hypoosmolarität charakterisiert sind.
59. Verwendung einer Anti-Sinn-Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 51 bis 52 zur Herstellung eines Medikamentes für die Behandlung von einer Krankheit ausgewählt aus der Gruppe von Diabetes, Hyperlipidämie, Hyperproteinämie, Hypertonus, Schlaganfall, Niereninsuffizienz, Schock sowie weiteren pathophysiologischen Zuständen, die durch Hyper- und Hypoosmolarität charakterisiert sind.
60. Verwendung eines Vektors nach einem der Ansprüche 21 bis 22 zur Herstellung eines Medikamentes für die Behandlung von einer Krankheit ausgewählt aus der Gruppe von Diabetes, Hyperlipidämie, Hyperproteinämie, Hypertonus, Schlaganfall, Niereninsuffizienz, Schock sowie weiteren pathophysiologischen Zuständen, die durch Hyper- und Hypoosmolarität charakterisiert sind.

61. Verwendung eines Wirts nach einem der Ansprüche 23 bis 28 zur Herstellung eines Medikamentes für die Behandlung von einer Krankheit ausgewählt aus der Gruppe von Diabetes, Hyperlipidämie, Hyperproteinämie, Hypertonus, Schlaganfall, Niereninsuffizienz, Schock sowie weiteren pathophysiologischen Zuständen, die durch Hyper- und Hypoosmolarität charakterisiert sind.
62. Nicht menschlicher Säuger, dadurch gekennzeichnet, daß er zusätzlich zu seinem Genom eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 20 (Transgen) enthält.
63. Nicht menschlicher Säuger, dadurch gekennzeichnet, daß in seinem Genom eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 20 inaktiviert (Gen-Knock-out) ist.
64. Nicht menschlicher Säuger, dadurch gekennzeichnet, daß in seinem Genom eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 20 modifiziert (Gen-Knock-in) ist.
65. Verfahren zur Herstellung eines nicht menschlichen Säugers, dadurch gekennzeichnet, daß
- a) embryonale Stammzellen besagten nicht menschlichen Säugetiers mit einem Vektor transfiziert werden, der eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 20 enthält sowie eine Rekombination zwischen der genomischen DNA besagten nicht menschlichen Säugetieres und der im Vektor enthaltenen Nukleinsäure ermöglicht.
 - b) stabil transfizierte Stammzellen aus Schritt a) isoliert werden und diese in die Keimbahn ein weibliches Tier besagten nicht menschlichen Säugetieres überführt werden
 - c) die Nachkommen besagten weiblichen Tieres aus Schritt b) mit einem männlichen Tier derselben Art werden auf Tiere, die das durch die Nukleinsäure aus Schritt a) kodierte Polypeptid exprimieren, analysiert.
66. Verfahren zur Herstellung eines nicht menschlichen Säugers, dadurch gekennzeichnet, daß
- d) embryonale Stammzellen des besagten nicht menschlichen Säugetiers mit einem Vektor transfiziert werden, der eine Nukleinsäure enthält, die an eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 20 unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann und durch Insertion einer zusätzlichen Nukleinsäuresequenz inaktiviert ist sowie eine Rekombination zwischen der genomischen DNA des besagten nicht menschlichen Säugetieres und der im Vektor enthaltenen Nukleinsäure ermöglicht

e) stabil transfizierte Stammzellen aus Schritt d) isoliert werden und diese in die Keimbahn eines weiblichen Tieres des besagten nicht menschlichen Säugetieres überführt werden.

f) die Nachkommen des besagten weiblichen Tieres aus Schritt e) mit einem männlichen Tier derselben Art werden auf Tiere, die das durch die Nukleinsäure aus Schritt d) kodierte Polypeptid gering oder überhaupt nicht exprimieren, analysiert.

67. Verfahren zur Herstellung eines nicht menschlichen Säugers, dadurch gekennzeichnet, daß

g) embryonale Stammzellen des besagten nicht menschlichen Säugetiers mit einem Vektor transfiziert werden, der eine Nukleinsäure enthält, die an eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 20 unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann und durch Insertion einer zusätzlichen Nukleinsäuresequenz modifiziert ist, sowie eine Rekombination zwischen der genomischen DNA besagten nicht menschlichen Säugetieres und der im Vektor enthaltenen Nukleinsäure ermöglicht

h) stabil transfizierte Stammzellen aus Schritt g) isoliert werden und diese in die Keimbahn ein weibliches Tier des besagten nicht menschlichen Säugetieres überführt werden

i) die Nachkommen des besagten weiblichen Tieres aus Schritt h) mit einem männlichen Tier derselben Art werden auf Tiere, die das durch die Nukleinsäure aus Schritt g) kodierte Polypeptid exprimieren, analysiert.

68. Pharmazeutische Zusammensetzung, enthaltend einen Modulator, Aktivator, oder Inhibitor von OTRPC4.

69. Verwendung eines Modulators, Aktivators oder Inhibitors zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Regulierung der Osmolarität körpereigener Flüssigkeiten.

70. Verwendung nach Anspruch 69, dadurch gekennzeichnet, dass die Flüssigkeit Liquor, Kammerwasser, und/oder Speichel ist.

71. Polypeptid nach Anspruch 29 mit der Aminosäuresequenz

MADSSEGPRAGPGEVAELPGDESGTPGGEAFPLSSLANLFEGEDGSLSPSPADA
SRPAGPGDGRPNLRMKFQGAFRKGVPNPIDLLESTLYESSVVPGPKKAPMDSL
DYGTYRHHSSDNKRWRKKIIEKQPQSPKAPAPQPPILKVFNRPILFDIVSRGST
ADLDGLLPFLTHKKRLTDEEFREPSTGKTCLPKALLNLSNGRNDTIPVLLDIAE
RTGNMREFINSFPRDIYYRGQTALHIAIERRCKHYVELLVAQGADVHAQARGRF
FQPKDEGGYFYFGELPLSLAACTNQPHIVNYLTENPHKKADMRRQDSRGNTVL
HALVAIADNTRENTKVFVTKMYDLLLLKCARLFPDSNLEAVLNNDGLSPLMMA
AKTGKIGIFQHIREVTDEDTRHLSRKFKDWAYGPVYSSLYDLSSLDTCGEEAS
VLEILVYNSKIENRHEMLAVEPINELLRDKWRKFGAVSFYINVVSYLCAMVIFT
LTAYYQPLEGTPPYRPTTVDYLRAGEVITLFTGVLFFFTNIKDLFMKKCPGV
NSLFIDGSFQLLYFIYSVLVIVSAALYLAGIEAYLAVMVFALVLGWMNALYFTR
GLKLTGTYSIMIQKILFKDLFRFLLVYLLFMIGYASALVSLNNPCANMKVCNED
QTNCTVPTYPSCRDSETFSTFLDLFKLTIGMGDLEMLSSTKYPVVFILLVTYII
LTFVLLLNMLIALMGETVGQVSKESKHIWKLQWATTILDIERSFVFLRKAFRS
GEMVTVGKSSDGTDDRWCVRVDEVNWSHWNQNLGIINEDPGKNETYQYYG
FSHTVGRLRRDRWSSVVPVVVELNKN SNPDEVVPLDSMGNPRCDGHQQGY
RKWRTEADAPL

OTRPC4 J M J O K I L F K D L F R F L L V L E L F M I G Y A S A L V T L - - - L N P C T N M K V C O E D O S N C T V P T Y P A
TM5

OTRPC4 C R D S E M - - B S A F L M D E F K L T I G M G D L E M L S S A K Y P V M F I L L L V T Y T L L F E V L L L N M L L A L
vermutete Porenregion TM6

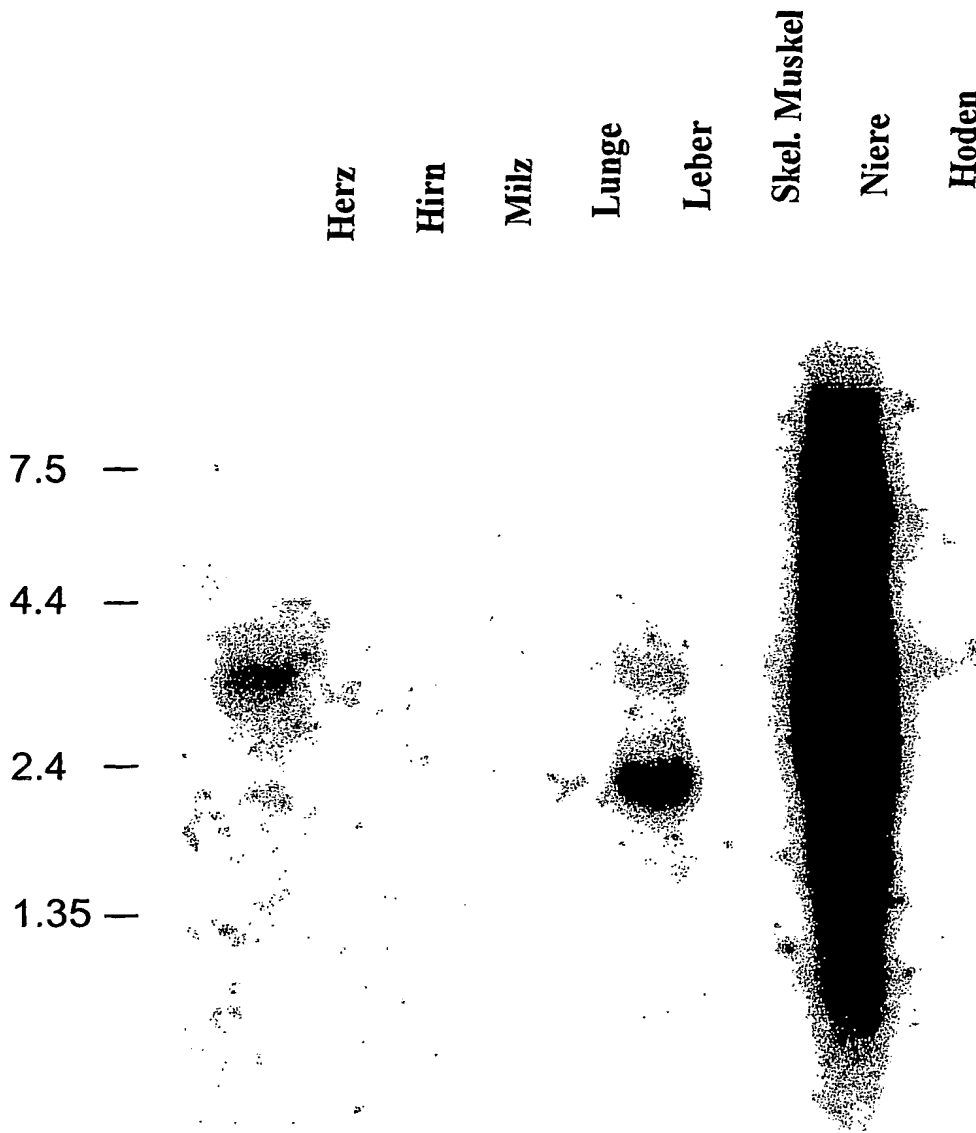
OTRPC4 M G E T V G O V S K E S K H M W K O W A I T T I L D I E R S E P V F L P K A F R S G E M V T V G K S S D G T P D R

1/21

Fig. 1a

ERSATZBLATT (REGEL 26)

2/21



140

CTCGCCGGAGGGATCAGGAAGCGCGGCGCTCGCCCGGCTCTGAGGTGAGAACTGAGAGTCCAGTATGGGATCGGATCGGAGGAGGTGGCTGAGCCCCCTGGAG

140

GAGCCGGCTCCCTAGTCTTTCGCGCGCGGAGCGGCGGAGGACCTCGGACTCTTCATGTTTGCTAGACCCAGGTCATACCGCTAGGACCACTACCGAGGCGGACCTCCACCGACTCGGGGGACCTC

5-RACE-Fragment

1 M A D P G D G P R OTRPC-ORF

140

ATGAGAGTGGTACCTCTGGTGGGAGGCTTCCCGCTCTTCCCTGGCCAACTGTTGAGGGGGAGGAGGCTCTCTCTCTTCCCGGTGGATGCTAGCGGCTTGGCCCTGGCGATGGAGCTCCAAACCTG

280

TACTCTCACCATTGGAGACCACTCCCTCGGAAGGGGAGAGAGGACCGGTTAGACAACTCCCTCTCTCCGAGGAGAGAGAGGGGCCACTTACGATCGGCGGGAGGACCGGACCGCTACCTCGAGGTTTGGAC

5-RACE-Fragment

1 D E S G T S G G E A F P L S S L A N L F E G E OTRPC-ORF

140

CGTATGAAGTTCAGGGGCTTTCGCAAGGGGTTCCCAAGGGGTTCCCAAGGCTTACCTGTTGGAGTCCACCGGTACAGTCTCAGTAGTGCCTGGGCCCAAGAAAGCGCCATGGATTCTTGTTCGACTACGGCACTTACCG

420

GCATACTTCAAGGTTCCCGGAAAGGCTTCCCGCAAGGTTGGGTAAC TGGACAACCTCAGGTGGGCCATGCTAGGAGTATCAGGACCGGGTCTTTCGCGGGTACCTAAGGAACAAGCTGATGCCGTGAATGGC

5-RACE-Fragment

1 R M K F Q G A F R K G V P N P I D L L E S T OTRPC-ORF

140

EST

140

ECIHK I

140

Xma I

140

Sma I

140

TCACCACCCAGTGACAAAGAGATGGAGGAGAAAGGTCGTGGAGAGGACGACACAGAGCCCCCAAGCTCTGCACCCAGCACCCCCCATCTTCAAGTCTTCAATCGGCCCATCTCTTTGACATTTGTGTCGGGG

560

AGTGGTGGGTCAGTGTGTTCTTCTACCTCTTTCACGACCTCTTCGTCGGTGCTCGGGGTTTCGAGGACGTGGGTCGGTGGGGGTAGGAGTTTCAGAAAGTTAGCCGGGTAGGAGAACTGTAAACACAGGCGCC

5-RACE-Fragment

1 H H P S D N K R W R R K V V E K O P O S P K A P A P O P P I L K V F N R P I L F D I V S R

140

EST

140

INTRON

140

INTRON 5956bpHS

140

Übergänge Maus seq.

Fig. 2a (I)
ERSATZBLATT (REGEL 26)

4/21

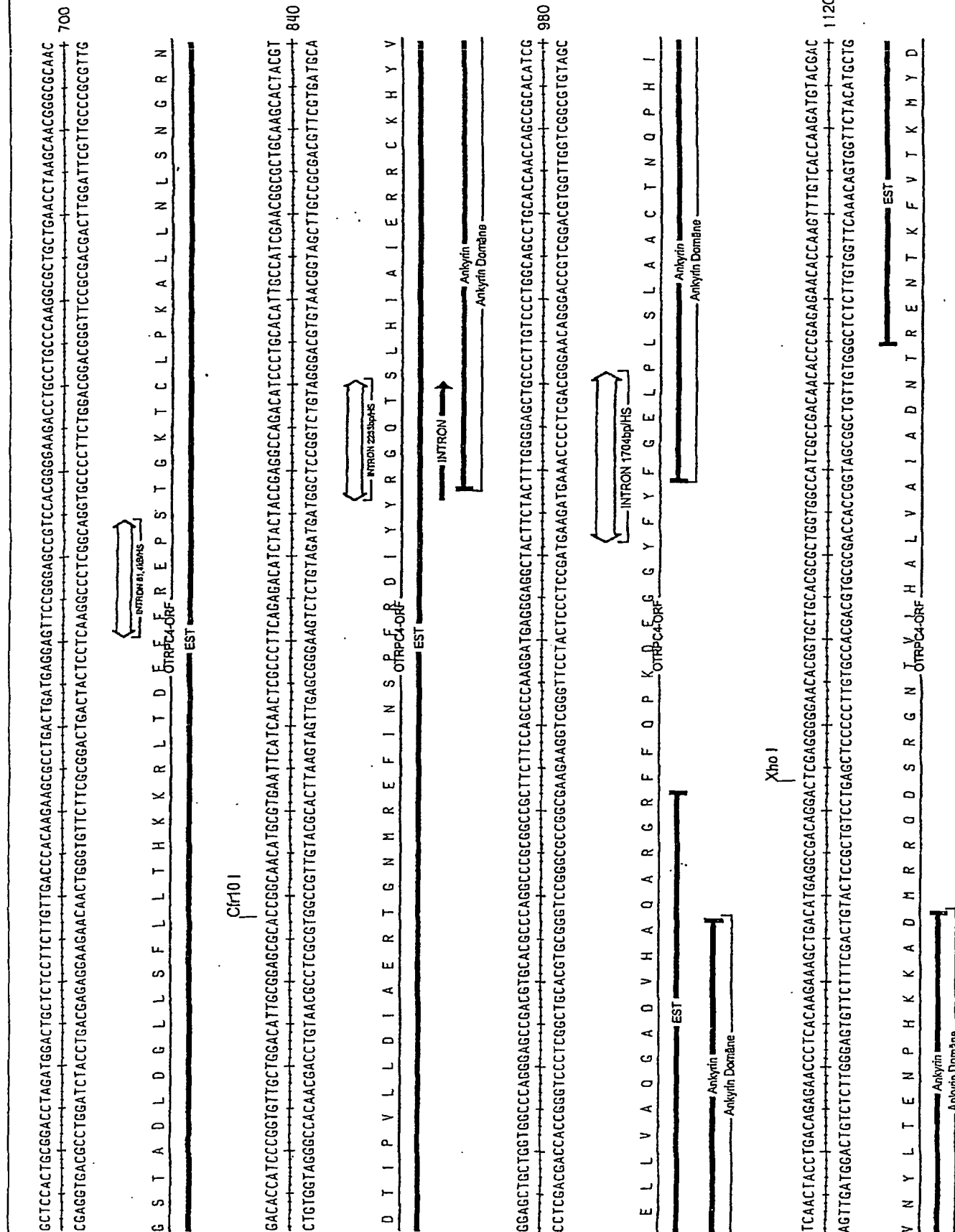


Fig. 2a (II)

ERSATZBLATT (REGEL 26)

5/21

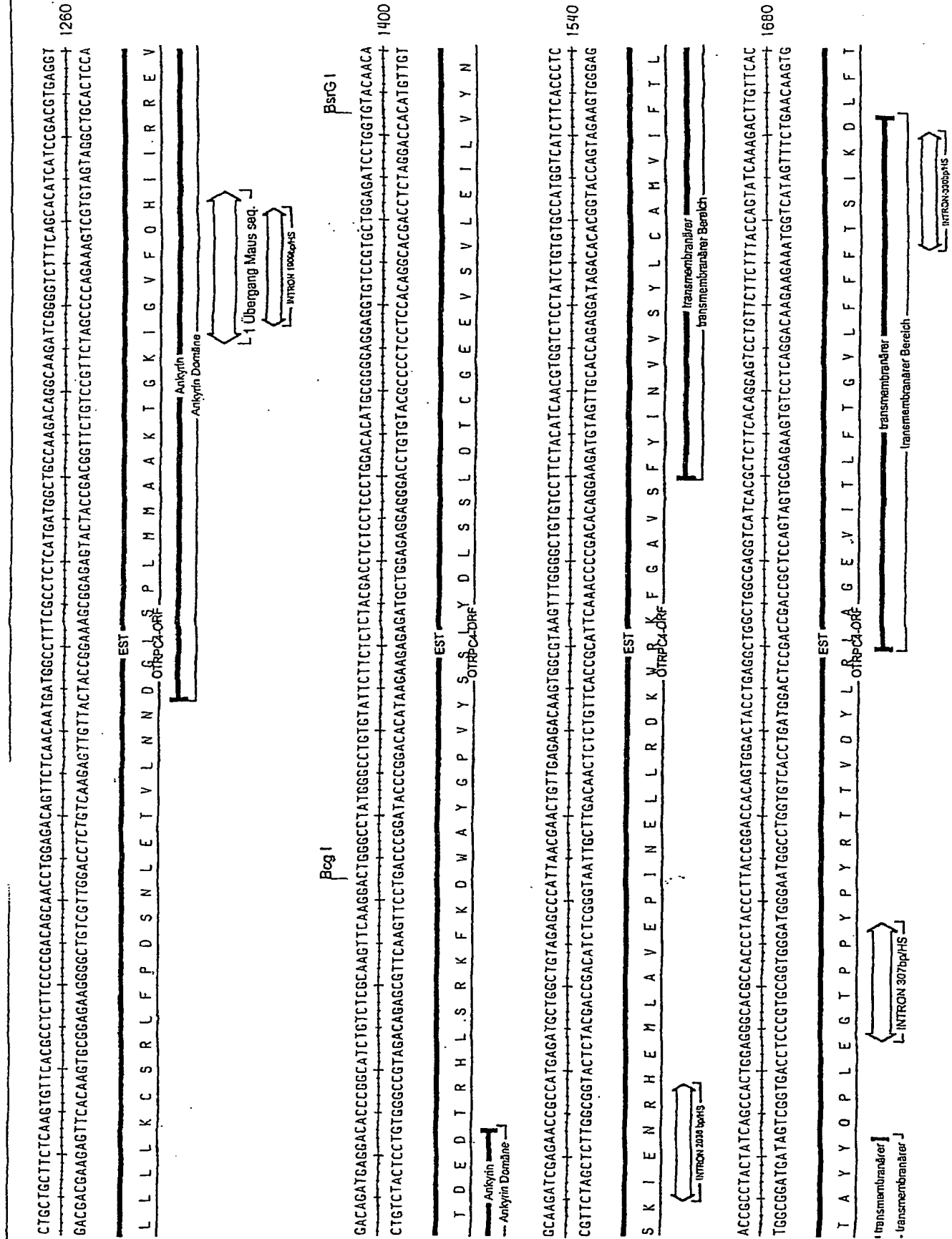


Fig. 2a (III)

TCCTCTTTACGGGACCTCAGTTTAAGAGAGAGAGCAGCTACCGAGGAGGGTCAATGGAATGAGTAGATGAGACACGACCACACAGAGAGACGCCCGCAGATGGAACCGACCTAGCTCCGGATGAGACCGCACTACCCAGAAAC

K K C P G V N S L F V D G S F O L L Y F I Y S V R J V V V S A A L Y L A G I E A Y L A V M V F

EST

OIRSC-ORF

transmembranärer Bereich

transmembranärer Bereich

NITRON 710 604HS

BsaM:

1960

A L V L G W H N A L Y F T R G L K L I G T Y S J M I O K I L L F K D L F R F L L V Y L L F H I G

EST —————

OTR04JRF

transmembranärer Bereich

transmembranärer Bereich

Iacon 2816g+H9

transmembranärer Bereich

transmembranärer Bereich

transmembranärer Bereich

TATATGCTCGAGCCCTGGTCACTCTCTGAACTCGGTGACCAACATGAAAGTCTGTGACGAGSACCAGAGCACTGCACGGTGCCACGATCTCTCGGTCCGCGACAGCGAGACCTTCAGCGCCTTCCTCTCGAGCCTCTT
 2100

Y A S A L V T L L N P C T N H K V C D E D O S N F T V P T Y P A C R D S E T F S A F L L D L F

EST ————— ONE

transmembranärer
transmembranärer Bereich

in der Regel in einem Zellbereich

CAAGCTCACCATCGGCATGGGAGACCTGGAGATGCTGAGCAGCGCCCAAGTACCCCGTGGCTTCATCCCTCTGCTGGTCACTACATCATCTCCTGCTGCTTATGCCCCCTCATGGGTGAGA
 2240
 GTTTCGAGTGGTAGCCGTACCCCTCTGGACCTCTACGACTCGTCGCGGTTCATGGGSCACCAGAAGTAGGAGGACGACCAGTGGATGTAGTAGGAGTGGAGGACGAGGACAACCTGTACGAATAGCGGAGTACCCACTCT

K L T I G H G D L E M L S S A K Y P V V F I O T R P C A D R F V T Y I I L T F V L L L N M L I A L M G E

EST
 transmembranärer
 Membranbereich

Fig. 2a (IV)
ERSATZBLATT (REGEL 26)

7/21

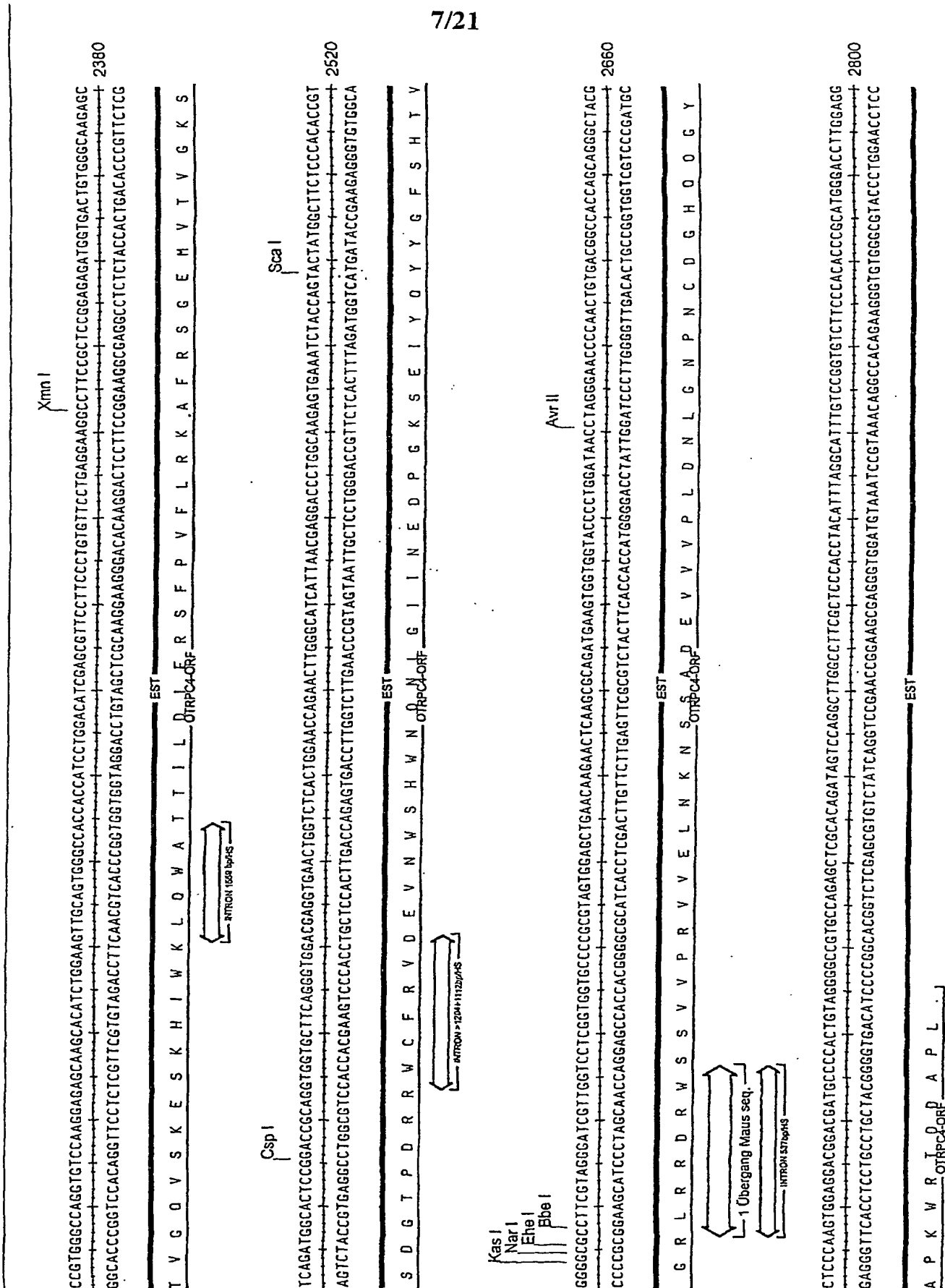


Fig. 2a (V)
ERSATZBLATT (REGEL 26)

Drd!

TCAGGGGCCTGTGSGGACTCTGTGAGGCCCCAGGACCCTCTGGTCCCGCCAGACTTTTGCTTCAGCTCTACTCCCCACATGGGGGGCGGGCTCTTGGCTACCTGCTCGCTCGCTCCCATGGAGTCACCTAAG
ACTCCCGGAGACACCCCTTGAGACCTTCGGGAGACACGAGGGCGGTCTTGAAACAGGAAGTCAGATGAGGGGTGTAACCCGCCGCCAGGACCGGATGGACAGACGACGAGGGGTACCTTCAGTGGATTC

EST

CCGAGCACAAAGGCCCTCTCGAAGGCTCAGGCCCATCCCTCTGTGTATTATTTATTTGCTCTCCTCAGGAAATGGGTGGCAGGAGTCCACCGGGCTGGAACCTGGCCAGGGCTGAAGCTCATGCAGGACGC
GGTCGTGTTCCGGGAGAGGAGCTTTCRAGTCCGGGGTAGGGAGAACACATAATAATACRAGAGGAGTCTTTTACCCCAACCGTCTTCAGGTGGGGCCCGACCTTGGACCGTCCCGACTTCGAGTACGTCCCTGCG

EST

3220
TGCAGCTCCGACCTGCCACAGATCTGACCTGCTGCAGCCCTGGCTAGTGGGTCTTCGTACTTTGAAGAGATCGGGCCGCTGGTGCTCAATAAATGTTTATCTCGTGGAAAAAATAAAAAA
ACGTCGAGGCTGGACGGTGCTAGACTGGACGAGCTCGGGCCGATCACACCCAGAGACATGAACCTCTCTAGCCCCGCGCACCGAGTATTTACAATAAGAGCCACCTTTTATTTTTTTTTTTTTT

TS3

[illegible]

Test 153

ERSATZBLATT (REGEL 26)

9/21

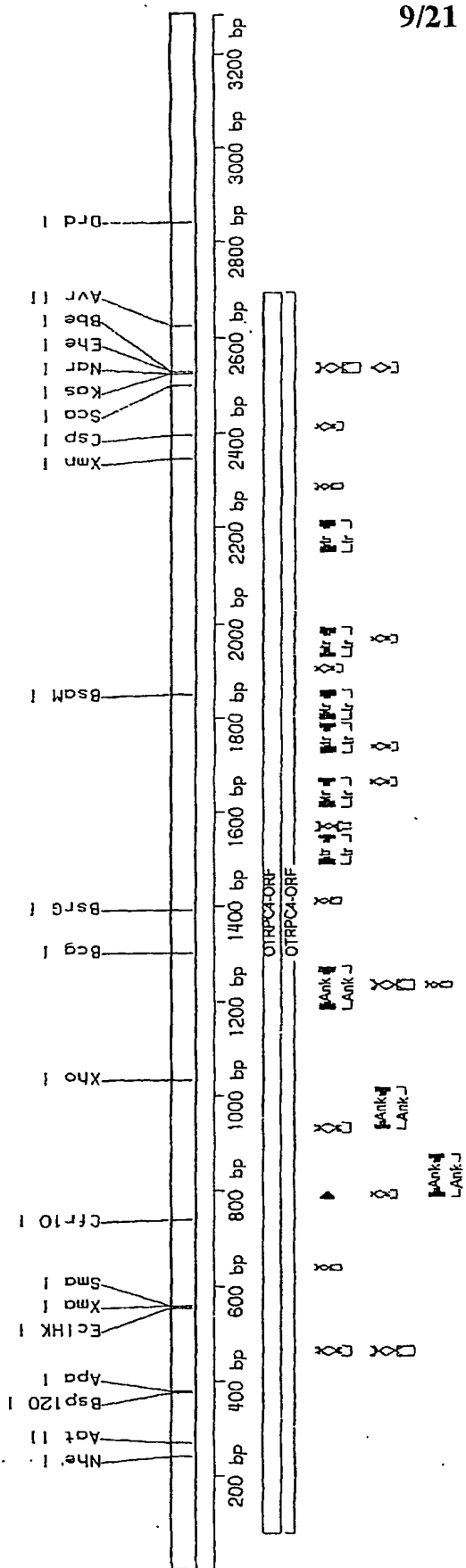


Fig. 2b

ERSATZBLATT (REGEL 26)

11/21

Maus Niere Sagitalanschnitt

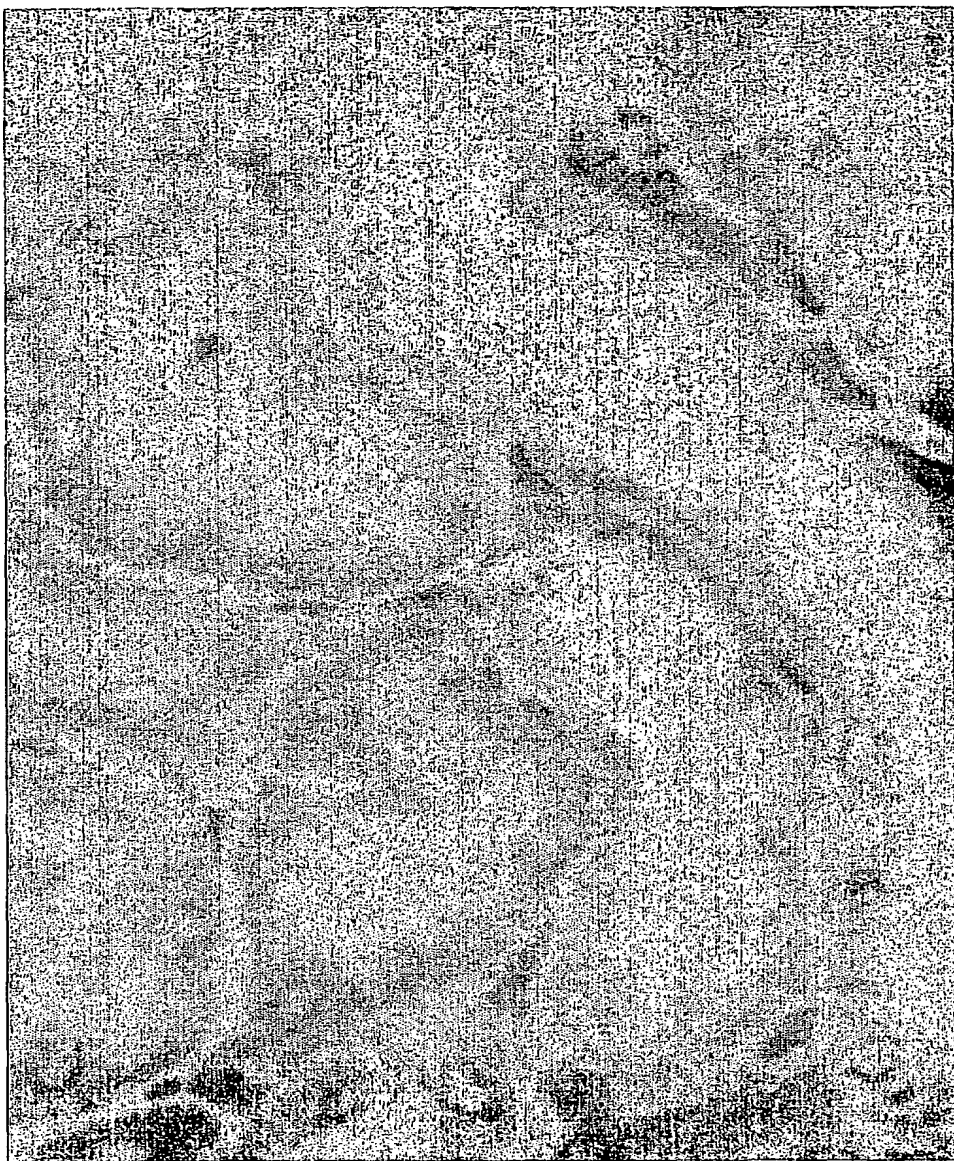


Fig. 3b

12/21

Maus Niere Sagitalanschnitt

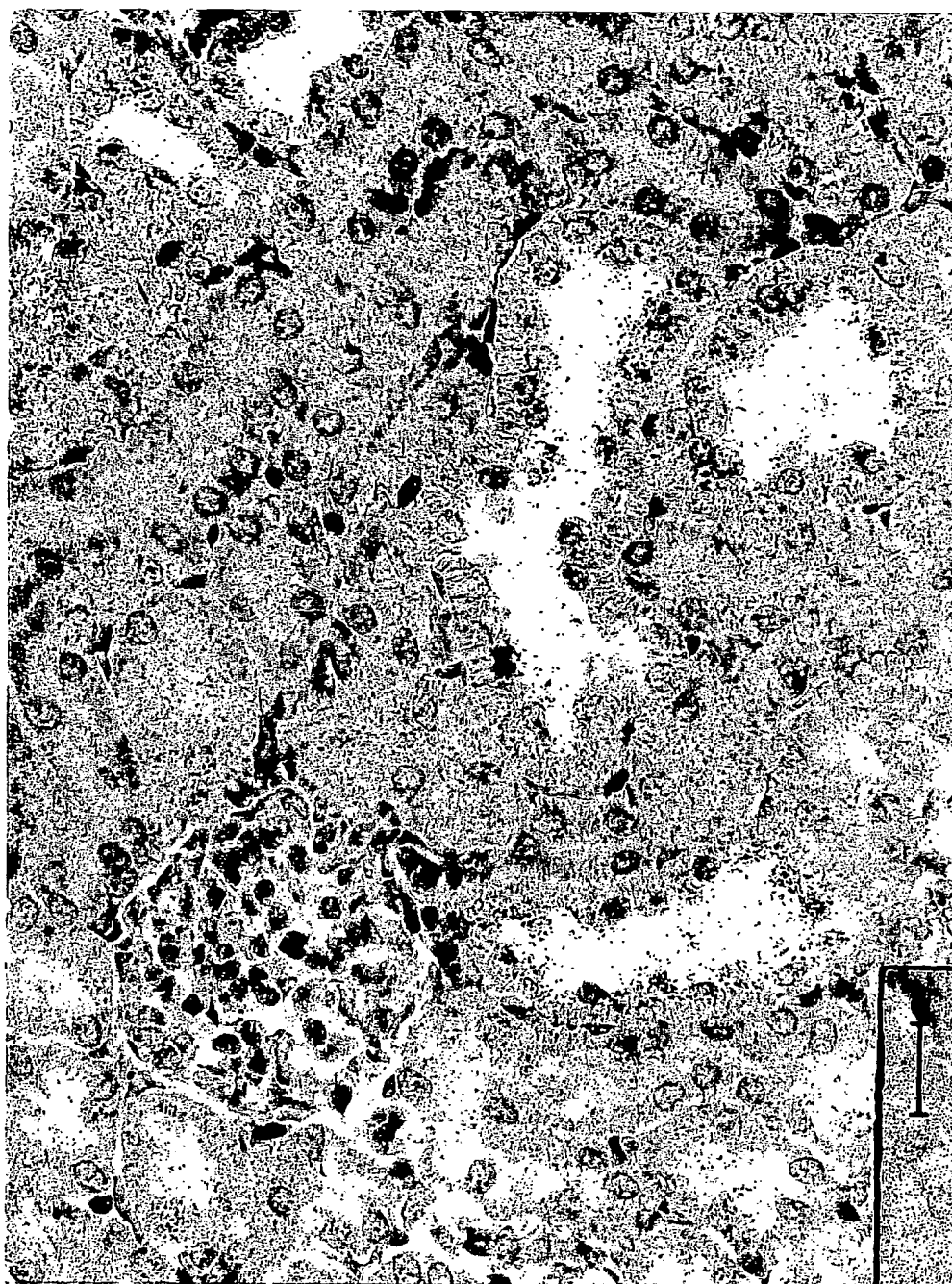


Fig. 3c

ERSATZBLATT (REGEL 26)

10/21

Maus Niere Sagitalanschnitt



Fig. 3a

Maus Niere Horizontalanschnitt

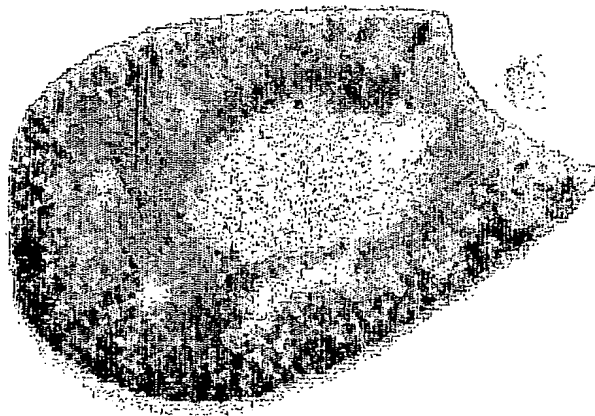


Fig. 3d

ERSATZBLATT (REGEL 26)

Maus Hirn Koronaranschnitt



Fig. 3f

Maus Hirn Sagitalanschnitt



Fig. 3e

Maus Hirn Horizontalanschnitt

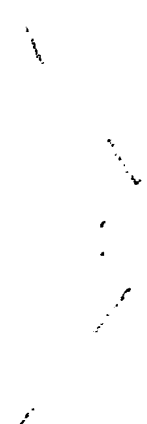


Fig. 3g

Maus Plexus choroideus

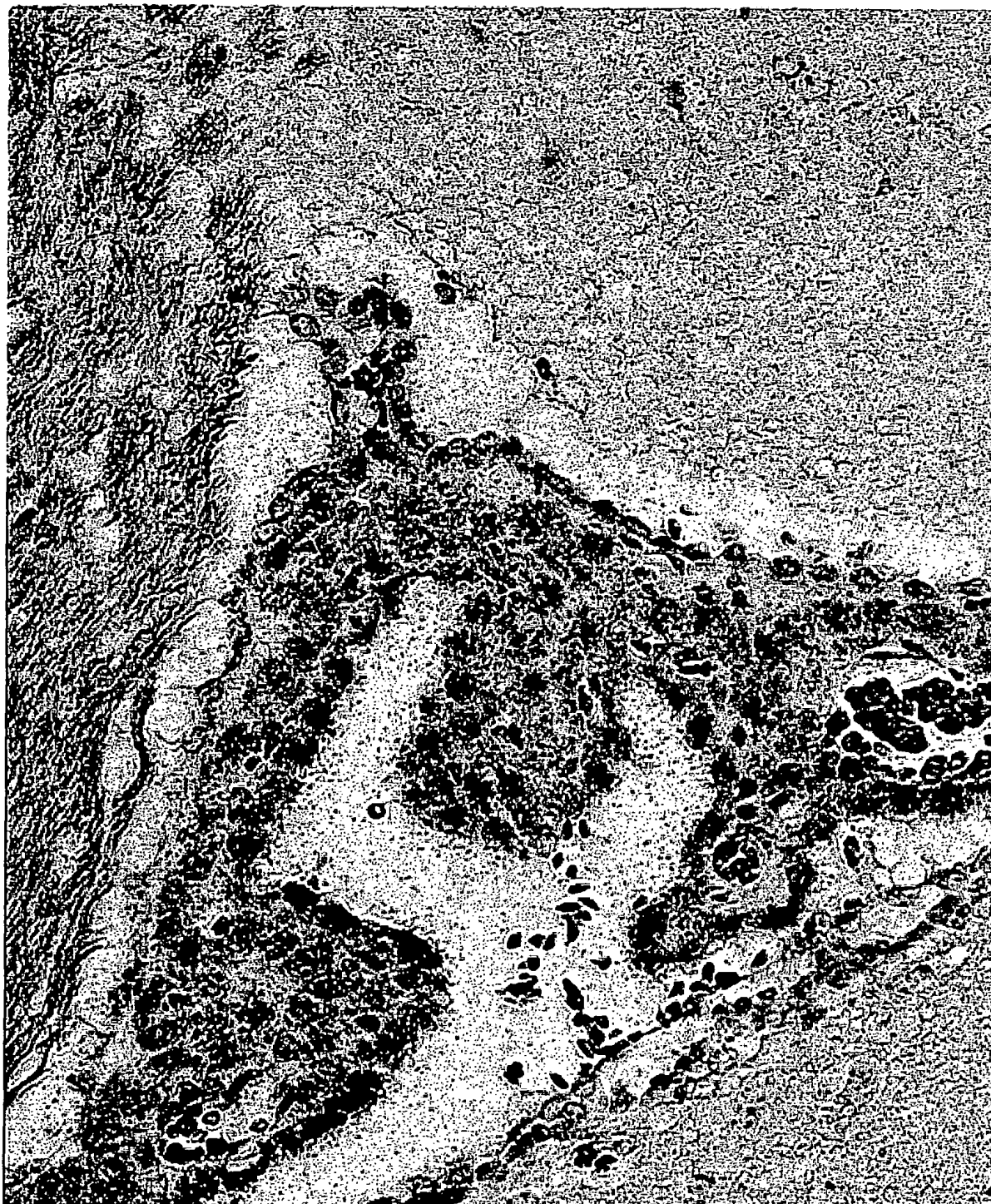


Fig. 3h

ERSATZBLATT (REGEL 26)

15/21

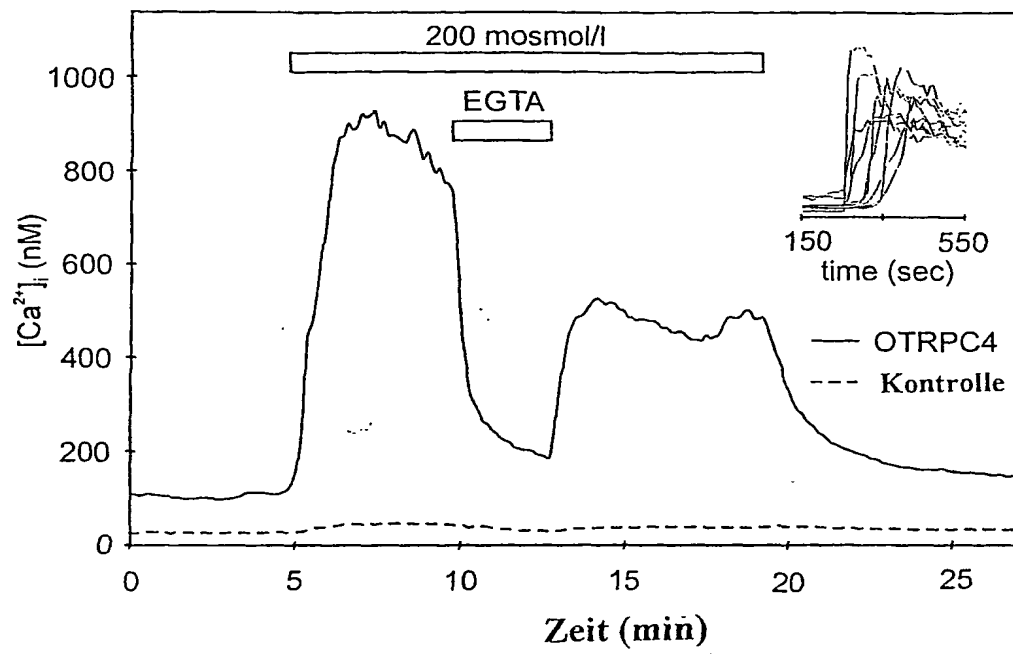


Fig. 4

16/21

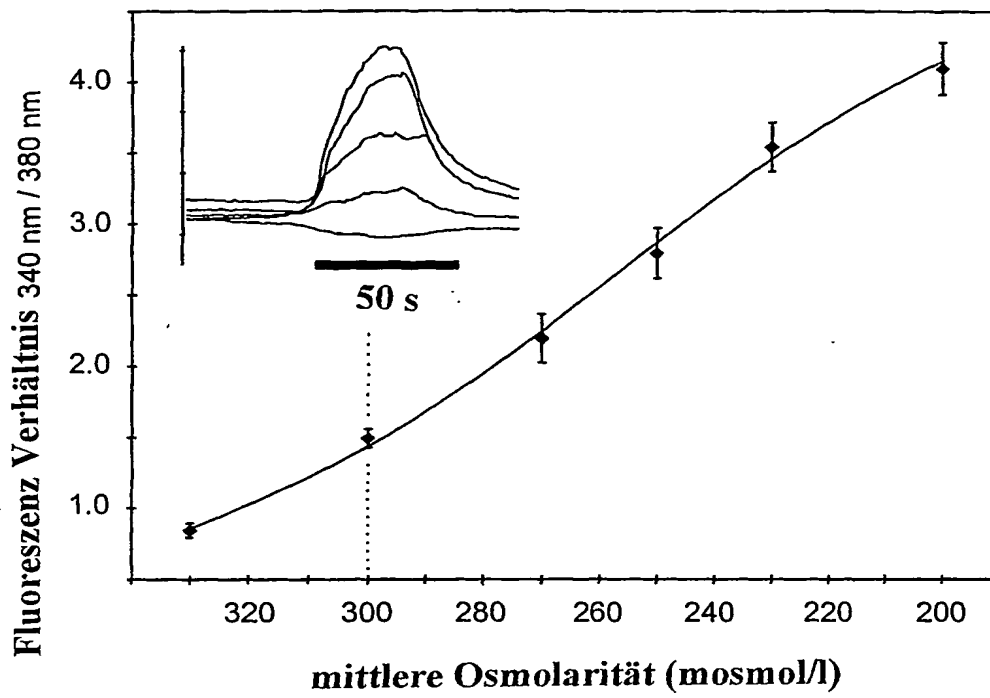


Fig. 5

17/21

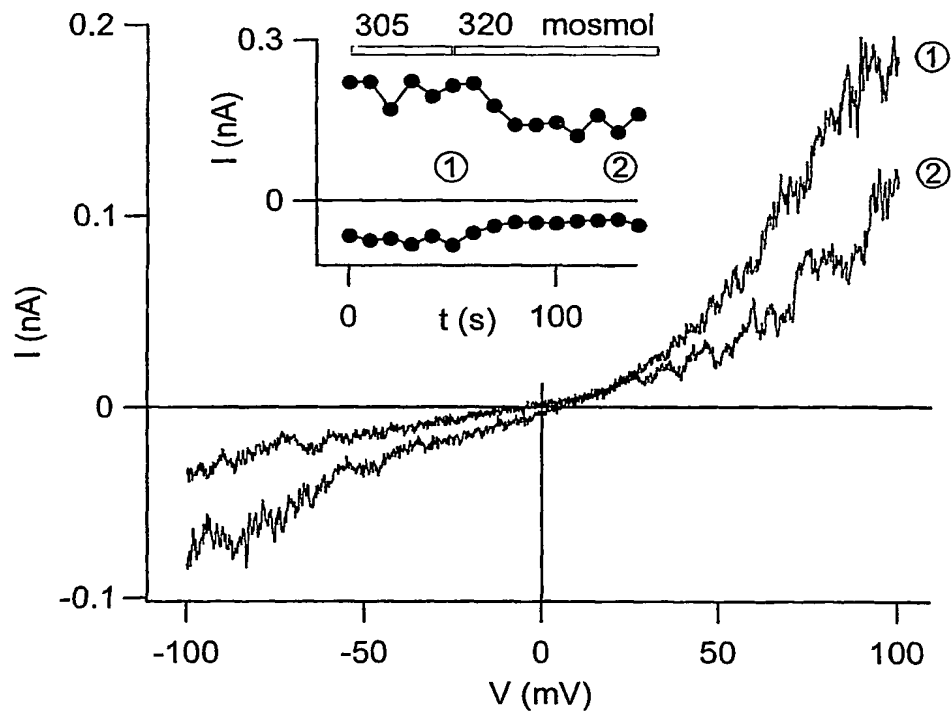


Fig. 6

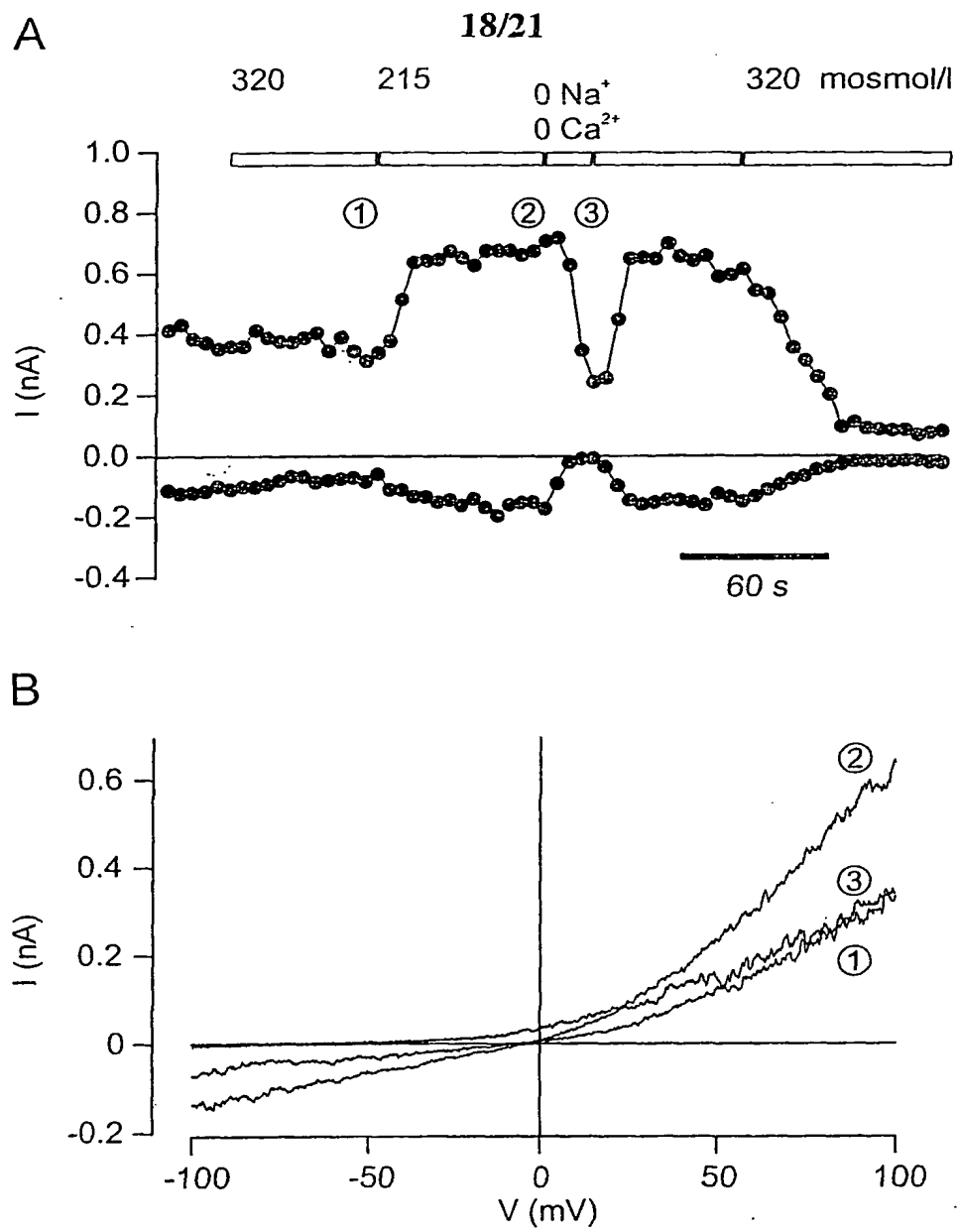


Fig. 7

19/21

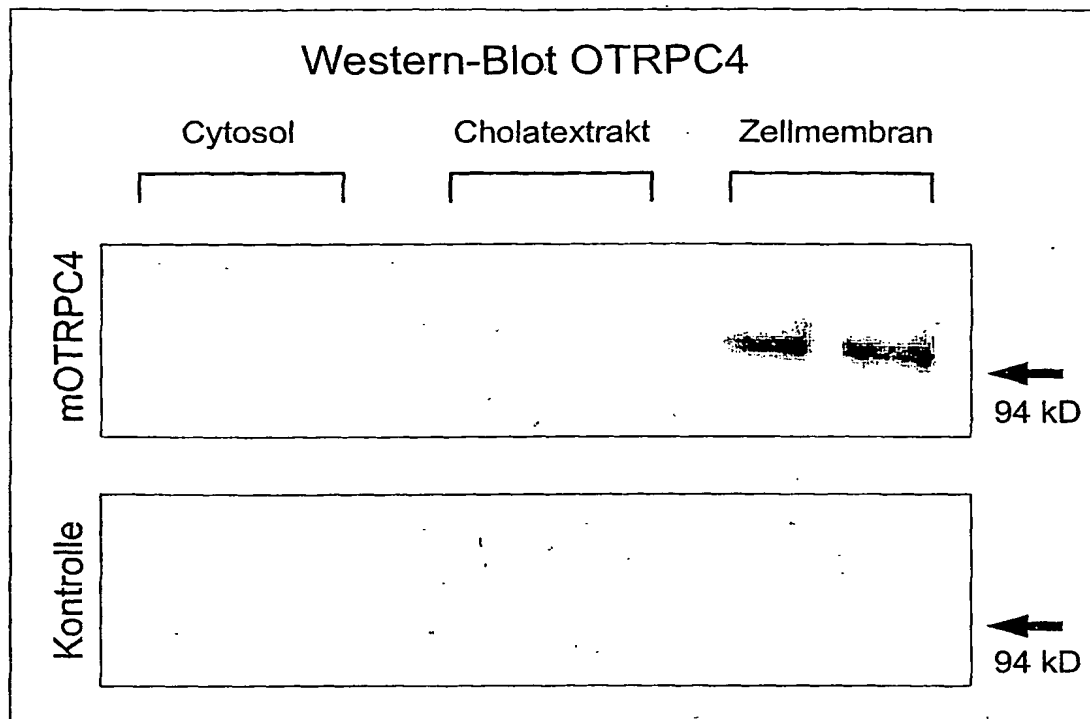


Fig. 8

20/21

Calcium-abhängige Fluoreszenzänderungen an Fura-2 beladenen Plexus choroideus-Zellen

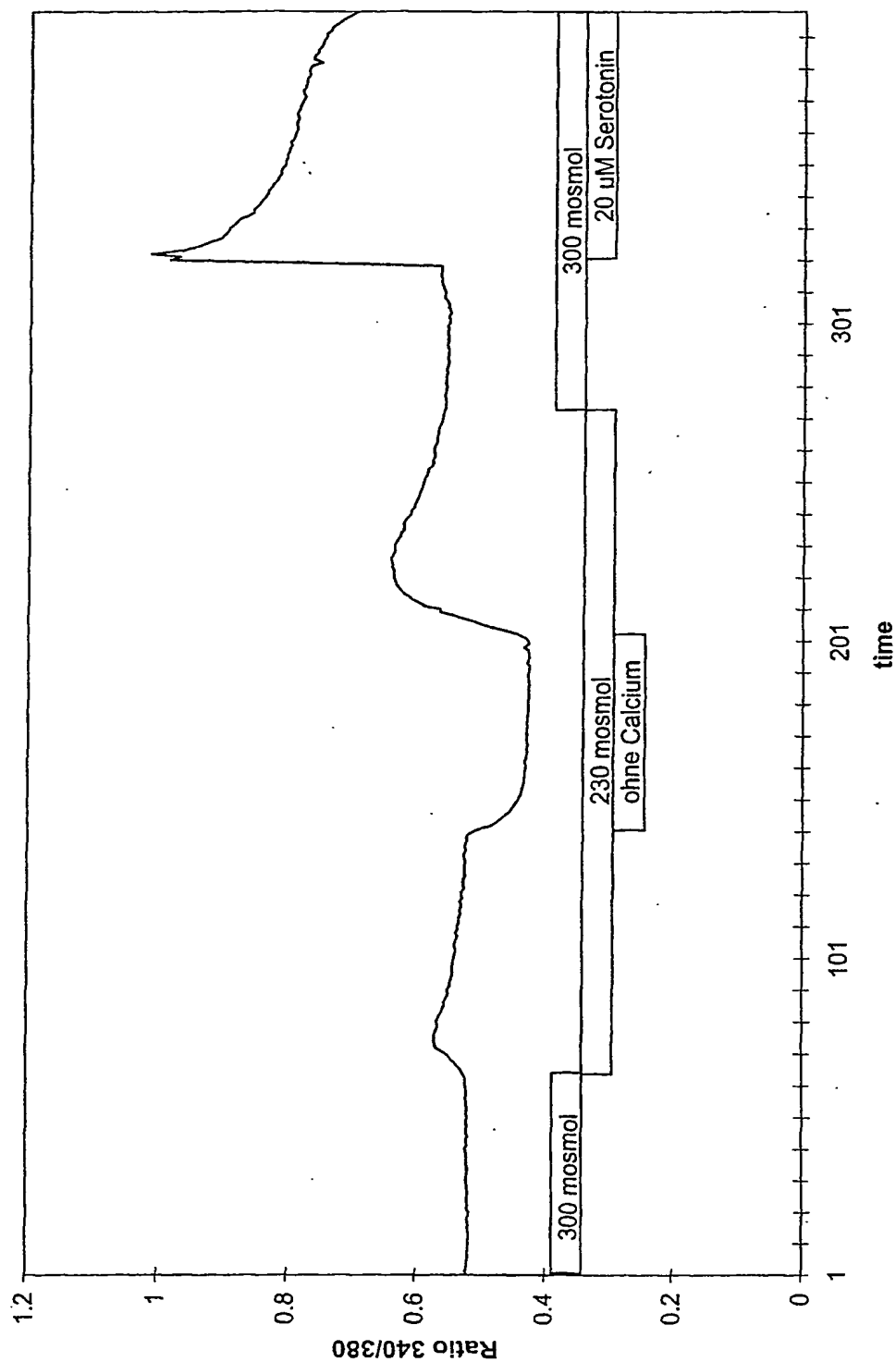
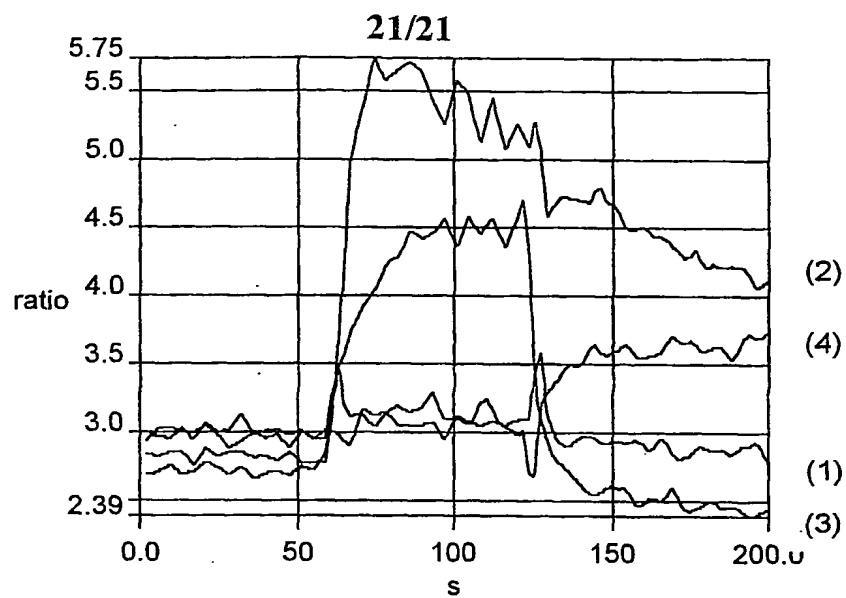


Fig. 9

ERSATZBLATT (REGEL 26)



- (1) Leerwert
- (2) Ionomycin (2 μ M) EGTA
- (3) hypotone Lösung (220 mosmol/l) EGTA
- (4) LOE908(100 μ M) hypotone Lösung (220 mosmol/l)

Fig. 10

SEQUENZPROTOKOLL

<110> Boehringer Ingelheim Pharma KG

<120> Neuer nichtselektiver Kationenkanal

<130> 1-1128

<140> 100 13 296.0

<141> 2000-03-17

<150> 100 13 296.0

<151> 2000-03-17

<160> 13

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 3202

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

```
ctctcaccgc ctactaccag ccgctggagg gcacaatggc ggattccagc gaaggccccc 60
gcgcgggggc cggggagggtg gctgagctcc ccggggatga gaggggcacc ccagggtggg 120
aggcttttcc tctctcctcc ctggccaatc tgtttgaggg ggaggatggc tccctttcgc 180
cctcaccggc tgatgccagt cgccctgctg gcccaggcga tgggcgacca aatctgcgca 240
tgaagttcca gggcgccctc cgcaaggggg tgcccaacc catcgatctg ctggagtcca 300
ccctatatga gtcctcggtg gtgcctgggc ccaagaaagc acccatggac tcactgtttg 360
actacggcac ctatcgtcac cactccagtg acaacaagag gtggaggaag aagatcatag 420
agaagcagcc gcagagcccc aaagcccctg cccctcagcc gcccccatc ctcaaagtct 480
tcaaccggcc tatcctcttt gacatcgtgt cccggggctc cactgctgac ctggacgggc 540
tgctcccatt ctgctgacc cacaagaaac gcctaactga tgaggagttt cgagagccat 600
ctacggggaa gacctgctg cccaaggcct tgctgaacct gagcaatggc cgcaacgaca 660
ccatccctgt gctgctggac atcgcgagc gcaccggcaa catgcgggag ttcatctaact 720
cgcccttccg tgacatctac tatcgaggtc agacagccct gcacatcgcc attgagcgtc 780
gctgcaaaca ctacgtggaa cttctcgtgg cccaggggagc tgatgtccac gcccaggccc 840
gtgggcgctt ctccagccc aaggatgagg ggggctactt ctactttggg gagctgcccc 900
tgtcgtggtg tgccctgcacc aaccagcccc acattgtcaa ctacctgacg gagaaccccc 960
acaagaaggc ggacatgcgg cgccaggact cgcgaggcaa cacagtgtg catgcgctgg 1020
tggccattgc tgacaacacc cgtgagaaca ccaagtttgt taccaagatg tacgacctgc 1080
tgctgctcaa gtgtgcccg ctttccccg acagcaacct ggaggccgtg ctcaacaacg 1140
acggcctctc gccctcatg atggctgcca agacgggcaa gattgggatc tttcagcaca 1200
tcatccggcg ggagggtgac gatgaggaca cacggcacct gtcccgcaag ttcaaggact 1260
gggcctatgg gccagtgtat tcctcgcttt atgacctctc ctccctggac acgtgtgggg 1320
aagaggcctc cgtgctggag atcctggtgt acaacagcaa gattgagaac cgccacgaga 1380
tgctggctgt ggagcccatc aatgaactgc tgccgggaaa gtggcgcaag ttccggggccg 1440
tctccttcta catcaacgtg gtctcctacc tgtgtgccat ggtcatcttc actctcaccg 1500
```

cctactacca	gccgctggag	ggcacaccgc	cgtaccctta	ccgcaccacg	gtggactacc
1560					
tgcggctggc	tggcgaggtc	attacgctct	tcactgggggt	cctgttcttc	ttcaccaaca
1620					
tcaaagactt	gttcatgaag	aaatgccctg	gagtgaattc	tctcttcatt	gatggctcct
1680					
tccagctgct	ctacttcatc	tactctgtcc	tggtgatcgt	ctcagcagcc	ctctacctgg
1740					
cagggatcga	ggcctacctg	gccgtgatgg	tctttgccct	ggtcctgggc	tggatgaatg
1800					
ccctttactt	cacccgtggg	ctgaagctga	cggggaccta	tagcatcatg	atccagaaga
1860					
ttctcttcaa	ggaccttttc	cgattcctgc	tcgtctactt	gctcttcatt	atcggctacg
1920					
cttcagccct	ggtctccctc	ctgaaccogt	gtgccaacat	gaagggtgtg	aatgaggacc
1980					
agaccaactg	cacagtggcc	acttaccctt	cgtgccgtga	cagcgagacc	ttcagcacct
2040					
tcctcctgga	cctgtttaag	ctgaccatcg	gcatggggcg	cctggagatg	ctgagcagca
2100					
ccaagtaccc	cgtggtcttc	atcatcctgc	tggtgaccta	catcatcctc	acctttgtgc
2160					
tgctcctcaa	catgctcatt	gccctcatgg	gcgagacagt	gggccagggtc	tccaaggaga
2220					
gcaagcacat	ctggaagctg	cagtggggcca	ccaccatcct	ggacattgag	cgctccttcc
2280					
ccgtattcct	gaggaaggcc	ttccgctctg	gggagatggg	caccgtgggc	aagagctcgg
2340					
acggcactcc	tgaccgcagg	tggtgcttca	gggtggatga	ggtgaactgg	tctcactgga
2400					
accagaactt	gggcatcatc	aacgaggacc	cgggcaagaa	tgagacctac	cagtattatg
2460					
gcttctcgca	taccgtgggc	cgcctccgca	gggatcgctg	gtcctcggtg	gtaccccgcg
2520					
tggtggaact	gaacaagaac	tcgaaccggt	acgaggtggg	ggtgcctctg	gacagcatgg
2580					
ggaacccccg	ctgcgatggc	caccagcagg	gttacccccg	caagtggagg	actgaggacg
2640					
ccccgctcta	gggactgcag	cccagcccca	gcttctctgc	ccactcattt	ctagtccagc
2700					
cgcatctcag	cagtgccttc	tgggggtgtcc	ccccacaccc	tgctttggcc	ccagaggcga
2760					
gggaccagtg	gaggtgccag	ggaggcccca	ggaccctgtg	gtcccctggc	tctgcctccc
2820					
caccctgggg	tgggggctcc	cggccacctg	tcttgctcct	atggagtcac	ataagccaac
2880					
gccagagccc	ctccacctca	ggccccagcc	cctgcctctc	cattatttat	ttgctctgct
2940					
ctcaggaagc	gacgtgaccc	ctgccccagc	tggaacctgg	cagaggcctt	aggaccccgt
3000					
tccaagtgca	ctgcccggcc	aagccccagc	ctcagcctgc	gcctgagctg	catgcgccac
3060					
cattttttggc	agcgtggcag	ctttgcaagg	ggctggggcc	ctcggcgtgg	ggccatgcct
3120					
tctgtgtgtt	ctgtagtgct	tgggatttgc	cggtgctcaa	taaatgttta	ttcattgacg
3180					
gtgaaaaaaa		aaaaaaaaaa			aa
3202					

<210> 2
 <211> 3202
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 2

```

ctctcaccgc ctactaccag ccgctggagg gcacaatggc ggattccagc gaaggccccc 60
gcgcggggcc cggggagggtg gctgagctcc ccggggatga gagtggcacc ccagggtggg 120
aggcttttcc tctctcctcc ctggccaatc tgtttgaggg ggaggatggc tccctttcgc 180
cctcaccggc tgatgccagt cgccttgctg gcccaggcga tgggcgacca aatctgcgca 240
tgaagtcca gggcgcttc cgcaaggggg tgcccaaccc catcgatctg ctggagtcca 300
ccctatatga gtcctcggtg gtgcctgggc ccaagaaagc acccatggac tcactgtttg 360
actacggcac ctatcgtcac cactccagtg acaacaagag gtggaggaag aagatcatag 420
agaagcagcc gcagagcccc aaagcccctg cccctcagcc gcccccatc ctcaaagtct 480
tcaaccggcc tctcctcttt gacatcgtgt cccggggctc cactgctgac ctggacgggc 540
tgctcccat ctgtctgacc cacaagaaac gcctaactga tgaggagttt cgagagccat 600
ctacggggaa gacctgcctg cccaaggcct tgctgaacct gagcaatggc cgcaacgaca 660
ccatccctgt gctgctggac atcgcgagc gcaccggcaa catgcgggag ttcattaact 720
cgcccttcgc tgacatctac tatcgaggtc agacagccct gcacatcgcc attgagcgtc 780
gctgcaaaca ctacgtggaa cttctcgtgg cccaggggagc tgatgtccac gcccaggccc 840
gtgggcgctt cttccagccc aaggatgagg ggggctactt ctactttggg gagctgcccc 900
tgtcgtggtg tgctgcacc aaccagcccc acattgtcaa ctacctgacg gagaaccccc 960
acaagaaggc ggacatgcgg cgccaggact cgcgaggcaa cacagtgtct catgcgctgg
1020
tggccattgc tgacaacacc cgtgagaaca ccaagtttgt taccaagatg tacgacctgc
1080
tgctgctcaa gtgtgcccgc ctcttccccg acagcaacct ggaggccgtg ctcaacaacg
1140
acggcctctc gccctcatg atggctgcca agacgggcaa gattgggatc tttcagcaca
1200
tcatccggcg ggaggtgacg gatgaggaca cacggcacct gtcccgcaag ttcaaggact
1260
gggcctatgg gccagtgtat tcctcgcttt atgacctctc ctccctggac acgtgtgggg
1320
aagaggcctc cgtgctggag atcctggtgt acaacagcaa gattgagaac cgccacgaga
1380
tgctggctgt ggagcccatc aatgaactgc tgccgggaaa gtggcgcaag ttccggggccg
1440
tctccttcta catcaacgtg gtctcctacc tgtgtgccat ggtcatcttc actctcaccg
1500
cctactacca gccgctggag ggcacaccgc cgtaccctta ccgcaccacg gtggactacc
1560
tgccgctggc tggcgaggtc attacgctct tcaactgggt cctgttcttc ttcaccaaca
1620
tcaaagactt gttcatgaag aaatgccctg gagtgaattc tctcttcatt gatggctcct
1680
tccagctgct ctacttcac tactctgtcc tgggtgatcgt ctcagcagcc ctctacctgg
1740
cagggatcga ggcctacctg gccgtgatgg tctttgccct ggtcctgggc tggatgaatg
1800
ccctttactt caccctggg ctgaagctga cggggaccta tagcatcatg atccagaaga
1860
ttctcttcaa ggaccttttc cgattcctgc tcgtctactt gctcttcatt atcggctacg
1920
cttcagccct ggtctccctc ctgaaccctg gtgccaacat gaaggtgtgc aatgaggacc
1980

```

```

agaccaactg  cacagtgtccc  acttaccctt  cgtgccgtga  cagcgagacc  ttcagcacct
2040
tcctcctgga  cctgtttaag  ctgaccatcg  gcatgggcga  cctggagatg  ctgagcagca
2100
ccaagtaccc  cgtggtcttc  atcatcctgc  tgggtgaccta  catcatcctc  acctttgtgc
2160
tgctcctcaa  catgctcatt  gccctcatgg  gcgagacagt  gggccagggtc  tccaaggaga
2220
gcaagcacat  ctggaagctg  cagtgggcc  ccaccatcct  ggacattgag  cgctccttcc
2280
ccgtattcct  gaggaaggcc  ttccgctctg  gggagatggg  caccgtgggc  aagagctcgg
2340
acggcactcc  tgaccgcagg  tgggtgcttca  ggggtggatga  ggtgaactgg  tctcactgga
2400
accagaactt  gggcatcatc  aacgaggacc  cgggcaagaa  tgagacctac  cagtattatg
2460
gcttcctcga  taccgtgggc  cgcctccgca  gggatcgctg  gtcctcgggtg  gtaccccgcg
2520
tgggtggaact  gaacaagaac  tcgaaccgga  acgaggtggg  ggtgcctctg  gacagcatgg
2580
ggaacccccg  ctgcatgggc  caccagcagg  gttacccccg  caagtggagg  actgaggacg
2640
ccccgctcta  gggactgcag  cccagcccca  gcttctctgc  ccactcattt  ctagtccagc
2700
cgcatthtcag  cagtgccttc  tgggggtgtcc  cccacacccc  tgctttggcc  ccagaggcga
2760
gggaccagtg  gaggtgccag  ggaggcccca  ggaccctgtg  gteccctggc  tctgcctccc
2820
caccctgggg  tgggggctcc  cggccacctg  tcttgctcct  atggagtcac  ataagccaac
2880
gccagagccc  ctccacctca  ggccccagcc  cctgcctctc  cattatttat  ttgctctgct
2940
ctcaggaagc  gacgtgaccc  ctgccccagc  tggaaacctg  cagaggcctt  aggaccccg
3000
tccaagtgca  ctgcccggcc  aagccccagc  ctcagcctgc  gcctgagctg  catgcgccac
3060
catttttggc  agcgtggcag  ctttgcaagg  ggctggggcc  ctcggcgtgg  ggccatgcct
3120
tctgtgtgtt  ctgtagtgtc  tgggatttgc  cgggtgctcaa  taaatgttta  ttcattgacg
3180
gtgaaaaaaaaa  aaaaaaaaaa  aa
3202

```

<210> 3

<211> 2616

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 3

```

atggcggatt  ccagcgaagg  cccccgcgcg  gggcccgggg  aggtggctga  gctccccggg  60
gatgagagtg  gcaccccagg  tggggaggct  tttcctctct  cctccctggc  caatctgttt  120
gagggggagg  atggctccct  ttccgcttca  cgggctgatg  ccagtcgccc  tgctggccca  180
ggcgtatggc  gaccaaattc  gcgcatgaag  ttccaggggc  ctttccgcaa  ggggggtgcc  240
aaccatcg  atctgctgga  gtccacccta  tatgagtcct  cgggtggtgc  tggggccaa  300
aaagcaccca  tggactcact  gtttgactac  ggcacctatc  gtcaccactc  cagtgacaac  360
aagaggtgga  ggaagaagat  catagagaag  cagccgcaga  gcccacaaag  cctgccccct  420
cagccgcccc  ccacccctca  agtcttcaac  cggcctatcc  tctttgacat  cgtgtccccg  480

```

```

ggctccactg ctgacctgga cgggctgctc ccattcttgc tgaccacaaa gaaacgccta 540
actgatgagg agtttcgaga gccatctacg gggaagacct gcctgccc aa ggccttgctg 600
aacctgagca atggccgcaa cgacaccatc cctgtgctgc tggacatcgc ggagcgcacc 660
ggcaacatgc gggagttcat taactcgccc ttccgtgaca tctactatcg aggtcagaca 720
gccctgcaca tcgccattga gcgtcgctgc aaacactacg tggaaacttct cgtggcccag 780
ggagctgatg tccacgccc ggcccggtgg cgcttcttcc agcccgaagga tgaggggggc 840
tacttctact ttggggagct gccctgtcg ctggctgcct gcaccaacca gcccacatt 900
gtcaactacc tgacggagaa cccccacaag aaggcggaca tgcggcgcca ggactcgcga 960
ggcaacacag tgctgcatgc gctggtggcc attgctgaca acaccctga gaacaccaag
1020
tttgttacca agatgtacga cctgctgctg ctcaagtgtg cccgcctctt ccccgacagc
1080
aacctggagg ccgtgctcaa caacgacggc ctctcgcccc tcatgatggc tgccaagacg
1140
ggcaagattg ggatctttca gcacatcatc cggcgggagg tgacggatga ggacacacgg
1200
cacctgtccc gcaagttcaa ggactgggccc tatggggccag tgtattcctc gctttatgac
1260
ctctcctccc tggacacgtg tggggaagag gcctccgtgc tggagatcct ggtgtacaac
1320
agcaagattg agaaccgcca cgagatgctg gctgtggagc ccatcaatga actgctgcgg
1380
gacaagtggc gcaagttcgg ggccgtctcc ttctacatca acgtggtctc ctacctgtgt
1440
gccatggtca tcttctactc caccgcctac taccagccgc tggagggcac accgccgtac
1500
ccttaccgca ccacggtgga ctacctgcgg ctggctggcg aggtcattac gctcttctact
1560
ggggtcctgt tcttcttcac caacatcaaa gacttgttca tgaagaaatg ccctggagtg
1620
aattctctct tcattgatgg ctccctccag ctgctctact tcatctactc tgtcctggtg
1680
atcgtctcag cagccctcta cctggcaggg atcgaggcct acctggccgt gatggtcttt
1740
gccctggtcc tgggctggat gaatgccctt tacttcaccc gtgggctgaa gctgacgggg
1800
acctatagca tcatgatcca gaagattctc ttcaaggacc ttttccgatt cctgctcgtc
1860
tacttgctct tcatgatcgg ctacgcttca gccctggtct ccctcctgaa cccgtgtgcc
1920
aacatgaagg tgtgcaatga ggaccagacc aactgcacag tgcccactta cccctcgtgc
1980
cgtgacagcg agaccttcag caccttcctc ctggacctgt ttaagctgac catcggcatg
2040
ggcgacctgg agatgctgag cagcaccaag taccctgtgg tcttcatcat cctgctggtg
2100
acctacatca tcctcacctt tgtgctgctc ctcaacatgc tcattgccct catgggcgag
2160
acagtggggc aggtctccaa ggagagcaag cacatctgga agctgcagtg ggccaccacc
2220
atcctggaca ttgagcgctc cttccccgta ttcttgagga aggccttccg ctctggggag
2280
atggtcaccg tgggcaagag ctcggacggc actcctgacc gcaggtgggtg cttcagggtg
2340
gatgaggtga actggtctca ctggaaccag aacttgggca tcatcaacga ggaccggggc
2400
aagaatgaga cctaccagta ttatggcttc tcgcataccg tgggccgcct ccgcagggat
2460

```

```

cgctggtcct  cggtggtacc  ccgctggtg  gaactgaaca  agaactcgaa  cccggacgag
2520
gtggtggtgc  ctctggacag  catggggaac  ccccgctgcg  atggccacca  gcagggttac
2580
ccccgcaagt          ggaggactga          ggacgccccg          ctctag
2616

```

<210> 4

<211> 2616

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 4

```

atggcggatt  ccagcgaagg  cccccgcgcg  gggcccgggg  aggtggctga  gctccccggg  60
gatgagagtg  gcaccccagg  tggggaggct  tttcctctct  cctccctggc  caatctgttt  120
gagggggagg  atggctccct  ttgcgccctc  ccggtgatg  ccagtcgccc  tgctggccca  180
ggcgatgggc  gaccaaattc  gcgcatgaag  ttccaggggc  ctttcgcaa  ggggggtgcc  240
aaccocatcg  atctgctgga  gtccacccta  tatgagtcct  cggtggtgcc  tgggcccagg  300
aaagcaccca  tggactcact  gtttgactac  ggacactatc  gtcaccactc  cagtgacaac  360
aagaggtgga  ggaagaagat  catagagaag  cagccgcaga  gcccacaagc  ccctgcccc  420
cagccgcccc  ccattcctca  agtcttcaac  cggcctatcc  tctttgacat  cgtgtccgg  480
ggctccactg  ctgacctgga  cgggctgctc  ccattcttgc  tgaccacaaa  gaaacgccta  540
actgatgagg  agtttcgaga  gccatctacg  gggaagacct  gcctgcccac  ggccttgctg  600
aacctgagca  atggccgcaa  cgacaccatc  cctgtgctgc  tggacatcgc  ggagcgcacc  660
ggcaacatgc  gggagttcat  taactcgccc  ttccgtgaca  tctactatcg  aggtcagaca  720
gccctgcaca  tcgccattga  gcgtcgctgc  aaacactacg  tggaaacttc  cgtggcccag  780
ggagctgatg  tccacgcccc  ggcccgtggg  cgcttcttcc  agcccaggga  tgaggggggc  840
tactttctact  ttggggagct  gcccctgtcg  ctggctgcct  gcaccaacca  gcccacatt  900
gtcaactacc  tgacggagaa  cccccacaag  aaggcggaca  tgcggcgcca  ggactcgcga  960
ggcaacacag  tgctgcatgc  gctggtggcc  attgctgaca  acaccgtga  gaacaccaag  1020
tttgttacca  agatgtacga  cctgctgctg  ctcaagtgtg  cccgcctctt  ccccgacagc  1080
aacctggagg  ccgtgctcaa  caacgacggc  ctctcgcccc  tcatgatggc  tgccaagacg  1140
ggcaagattg  ggatctttca  gcacatcatc  cggcgggagg  tgacggatga  ggacacacgg  1200
cacctgtccc  gcaagttcaa  ggactggggc  tatgggccag  tgtattcctc  gctttatgac  1260
ctctcctccc  tggacacgtg  tggggaagag  gcctccgtgc  tggagatcct  ggtgtacaac  1320
agcaagattg  agaaccgcca  cgagatgctg  gctgtggagc  ccatcaatga  actgctgcgg  1380
gacaagtggc  gcaagttcgg  ggccgtctcc  ttctacatca  acgtggtctc  ctacctgtgt  1440
gccatggtca  tcttcactct  caccgcctac  taccagccgc  tggagggcac  accgccgtac  1500
ccttaccgca  ccacggtgga  ctacctgcgg  ctggctggcg  aggtcattac  gctcttcact  1560
ggggtcctgt  tcttcttcac  caacatcaaa  gacttggtca  tgaagaaatg  ccctggagtg  1620
aattctctct  tcattgatgg  ctcttccag  ctgctctact  tcatctactc  tgtcctggtg  1680
atcgtctcag  cagccctcta  cctggcaggg  atcgaggcct  acctggccgt  gatggtcttt  1740
gccctggtcc  tgggctggat  gaatgccctt  tacttcaccc  gtgggctgaa  gctgacgggg  1800

```


acctatagca 1860	tcatgatcca	gaagattctc	ttcaaggacc	ttttccgatt	cctgctcgtc
tacttgctct 1920	tcatgatcgg	ctacgcttca	gccctgggtct	ccctcctgaa	cccgtgtgcc
aacatgaagg 1980	tgtgcaatga	ggaccagacc	aactgcacag	tgcccactta	cccctcgtgc
cgtgacagcg 2040	agaccttcag	caccttcctc	ctggacctgt	ttaagctgac	catcggcatg
ggcgacctgg 2100	agatgctgag	cagcaccaag	taccccggtg	tcttcatcat	cctgctggtg
acctacatca 2160	tcctcacctt	tgtgctgctc	ctcaacatgc	tcattgccct	catgggagag
acagtgggccc 2220	aggtctccaa	ggagagcaag	cacatctgga	agctgcagtg	ggccaccacc
atcctggaca 2280	ttgagcgctc	cttccccgta	ttcctgagga	aggccttccg	ctctggggag
atggtcaccg 2340	tgggcaagag	ctcggacggc	actcctgacc	gcaggtggtg	cttcagggtg
gatgaggtga 2400	actggtctca	ctggaaccag	aacttgggca	tcatcaacga	ggaccggggc
aagaatgaga 2460	cctaccagta	ttatggcttc	tcgcataccg	tgggccgcct	ccgcagggat
cgctggtcct 2520	cggtggtacc	ccgcgtggtg	gaactgaaca	agaactcgaa	cccggacgag
gtggtggtgc 2580	ctctggacag	catgggggaa	ccccgctgcg	atggccacca	gcagggttac
ccccgcaagt 2616	ggaggactga		ggacgccccg		ctctag

<210> 5

<211> 3324

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 5

ggccacgcgt	cgactagtag	gggggggggg	ggggggggtg	crgrggakc	aggactcggc	60
cggagggatc	aggaagcggc	ggcgctgcgc	ccgcgtcctg	aggctgagaa	gtacaaacag	120
atctgggtcc	agtatggcag	atcctgggtg	tgggtccccg	gcagcgcttg	gggaggtggc	180
tgagccccct	ggagatgaga	gtggtacctc	tgggtggggag	gccttcccc	tctcttccct	240
ggccaatctg	tttgaggggg	aggaaggctc	ctcttctctt	tccccggttg	atgctagccg	300
ccctgctggc	cctggcgatg	gacgtccaaa	cctgcgtatg	aagttccagg	gcgctttccg	360
caaggggggt	ccaaccccca	ttgacctgtt	ggagtccacc	cggtacgagt	cctcagtagt	420
gcctggggcc	aagaaagcgc	ccatggattc	cttgttcgac	tacggcactt	accgtcacca	480
ccccagtgac	aacaagagat	ggaggagaaa	ggtcgtggag	aagcagccac	agagcccaa	540
agctcctgca	ccccagccac	cccccatcct	caaagtcttc	aatcggccca	tcctctttga	600
cattgtgtcc	cggggctcca	ctgcggacct	agatggactg	ctctccttct	tgttgaccca	660
caagaagcgc	ctgactgatg	aggagttccg	ggagccgtcc	acggggaaga	cctgcctgcc	720
caaggcgctg	ctgaacctaa	gcaacggggc	caacgacacc	atcccgggtg	tgctggacat	780
tgcgagagcg	accggcaaca	tgcgtgaatt	catcaactcg	cccttcagag	acatctacta	840
ccgaggccag	acatccctgc	acattgccat	cgaacggcgc	tgcaagcact	acgtggagct	900
gctggtggcc	cagggagccg	acgtgcacgc	ccaggccccg	ggccgcttct	tccagcccaa	960
ggatgaggga	ggctacttct	actttgggga	gctgccttct	tcctggcag	cctgcaccaa	1020
ccagccgcac	atcgtcaact	acctgacaga	gaaccctcac	aagaaagctg	acatgaggcg	1080
acaggactcg	agggggaaca	cggtgctgca	cgcgctgggtg	gccatcgccg	acaacacccg	1140

agagaacacc 1200	aagtttgtca	ccaagatgta	cgacctgctg	cttctcaagt	gttcacgcct
cttccccgac 1260	agcaacctgg	agacagttct	caacaatgat	ggcctttcgc	ctctcatgat
ggctgccaaag 1320	acaggcaaga	tcgggggtctt	tcagcacatc	atccgacgtg	aggtgacaga
tgaggacacc 1380	cggcatctgt	ctcgcaagtt	caaggactgg	gcctatgggc	ctgtgtattc
ttctctctac 1440	gacctctcct	ccctggacac	atgcggggag	gaggtgtccg	tgctggagat
cctgggtgtac 1500	aacagcaaga	tcgagaaccg	ccatgagatg	ctggctgtag	agcccattaa
cgaactgttg 1560	agagacaagt	ggcgtaagtt	tggggctgtg	tccttctaca	tcaacgtggt
ctcctatctg 1620	tgtgccatgg	tcatcttcac	cctcaccgcc	tactatcagc	cactggaggg
cacgccaccc 1680	tacccttacc	ggaccacagt	ggactacctg	aggctggctg	gcgaggtcat
cacgctcttc 1740	acaggagtcc	tggtcttctt	taccagtatc	aaagacttgt	tcacgaagaa
atgccctgga 1800	gtgaattctc	tcttcgtcga	tggctccttc	cagttactct	acttcatcta
ctctgtgctg 1860	gtggttgtct	ctgcggcgct	ctacctggct	gggatcgagg	cctacctggc
tgtgatggtc 1920	tttgccctgg	tcctgggctg	gatgaatgcg	ctgtacttca	cgcgcggggt
gaagctgacg 1980	gggacctaca	gcatcatgat	tcagaagatc	ctcttcaaag	acctcttccg
cttcctgctt 2040	gtgtacctgc	tcttcatgat	cggctatgcc	tcagccctgg	tcaccctcct
gaatccgtgc 2100	accaacatga	aggtctgtga	cgaggaccag	agcaactgca	cggtgcccac
gtatcctgcg 2160	tgccgcgaca	gcgagacctt	cagcgccttc	ctcctggacc	tcttcaagct
caccatcggc 2220	atgggagacc	tggagatgct	gagcagcgcc	aagtaccccg	tggtcttcat
cctcctgctg 2280	gtcacctaca	tcatcctcac	cttcgtgctc	ctggtgaaca	tgcttatcgc
cctcatgggt 2340	gagaccgtgg	gccaggtgtc	caaggagagc	aagcacatct	ggaagttgca
gtgggcccac 2400	accatcctgg	acatcgagcg	ttccttccct	gtgttcctga	ggaaggcctt
ccgctccgga 2460	gagatggtga	ctgtgggcaa	gagctcagat	ggcactccgg	accgcaggtg
gtgcttcagg 2520	gtggacgagg	tgaactggtc	tcactggaac	cagaacttgg	gcatcattaa
cgaggaccct 2580	ggcaagagtg	aaatctacca	gtactatggc	ttctcccaca	ccgtggggcg
ccttcgtagg 2640	gatcgttggt	cctcggtggt	gccccgcgta	gtggagctga	acaagaactc
aagcgcagat 2700	gaagtgggtg	tacccttgga	taacctaggg	aaccccaact	gtgacggcca
ccagcagggc 2760	tacgctccca	agtggaggac	ggacgatgcc	ccactgtagg	ggccgtgcca
gagctcgcac 2820	agatagtcca	ggcttggcct	tcgctcccac	ctacatttag	gcatttgtcc
ggtgtcttcc 2880	cacacccgca	tgggaccttg	gaggtgaggg	cctctgtggc	gactctgtgg

```

aggccccagg accctctggt ccccgccaag acttttgcct tcagctctac tccccacatg
2940
ggggggcggg gctcctgggt acctgtctcg ctcgctccca tggagtcacc taagccagca
3000
caaggccct ctcctcgaaa ggctcaggcc ccatccctct tgtgtattat ttattgctct
3060
cctcaggaaa atgggggtggc aggagtccac ccgcggtgg aacctggcca gggctgaagc
3120
tcatgcaggg acgctgcagc tccgacctgc cacagatctg acctgctgca gccctggcta
3180
gtgtgggtct tctgtacttt gaagagatcg gggccgctgg tgctcaataa atgtttattc
3240
tcggtggaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
3300
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa
3324

```

<210> 6

<211> 3324

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 6

```

ggccacgcgt cgactagtac gggggggggg ggggggggtg crgsrggkac aggactcggc 60
cggagggatc aggaagcggc ggcgctgcgc ccgctcctg aggctgagaa gtacaaacag 120
atctgggtcc agtatggcag atcctggtga tgggtcccggt gcagcgctg gggaggtggc 180
tgagccccct ggagatgaga gtggtacctc tgggtggggag gccttcccc tctcttccct 240
ggccaatctg tttgaggggg aggaaggctc ctcttctctt tccccggtg atgctagccg 300
ccctgctggc cctggcgatg gacgtccaaa cctgctgatg aagttccagg gcgcttcccg 360
caaggggggt cccaacccca ttgacctgtt ggagtccacc cgttacgagt cctcagtagt 420
gcctggggcc aagaagcgc ccatggattc cttgttcgac tacggcactt accgtcacca 480
ccccagtgac aacaagagat ggaggagaaa ggtcgtggag aagcagccac agagcccaa 540
agctcctgca cccagccac ccccatcct caaagtctt aatcgggcca tctctttga 600
cattgtgtcc cggggctcca ctgcggacct agatggactg ctctccttct tgttgacca 660
caagaagcgc ctgactgatg aggagttccg ggagccgtcc acggggaaga cctgcctgcc 720
caaggcgctg ctgaacctaa gcaacgggcg caacgacacc atcccggtgt tgctggacat 780
tgcggagcgc accggcaaca tgcgtgaatt catcaactcg cccttcagag acatctacta 840
ccgaggccag acatccctgc acattgccat cgaacggcgc tgcaagcact acgtggagct 900
gctggtggcc cagggagccg acgtgcacgc ccaggccgc ggccgcttct tccagcccaa 960
ggatgagggg ggctacttct actttgggga gctgccctg tccctggcag cctgcaccaa 1020
ccagccgcac atcgtcaact acctgacaga gaaccctcac aagaaagctg acatgaggcg 1080
acaggactcg agggggaaca cgggtgctgca cgcgctggtg gccatcgccg acaacacccg 1140
agagaacacc aagtttgtca ccaagatgta cgacctgctg cttctcaagt gttcacgcct 1200
cttccccgac agcaacctgg agacagttct caacaatgat ggcctttcgc ctctcatgat 1260
ggctgccaa agacaggaaga tcgggggtctt tcagcacatc atccgacgtg aggtgacaga 1320
tgaggacacc cggcatctgt ctcgcaagtt caaggactgg gcctatgggc ctgtgtattc 1380
ttctctctac gacctctcct ccctggacac atgcggggag gaggtgtccg tgctggagat 1440
cctggtgtac aacagcaaga tcgagaaccg ccatgagatg ctggctgtag agcccatata 1500

```

cgaactgttg 1560	agagacaagt	ggcgtaagtt	tggggctgtg	tccttctaca	tcaacgtggt
ctcctatctg 1620	tgtgccatgg	tcctcttcac	cctcaccgcc	tactatcagc	cactggaggg
cacgccaccc 1680	tacccttacc	ggaccacagt	ggactacctg	aggctggctg	gcgaggtcat
cacgtctctc 1740	acaggagtcc	tgttcttctt	taccagtatc	aaagacttgt	tcacgaagaa
atgccctgga 1800	gtgaattctc	tcttcgtcga	tggctccttc	cagttactct	acttcatcta
ctctgtgctg 1860	gtggttgtct	ctgcggcgct	ctacctggct	gggatcgagg	cctacctggc
tgtgatggtc 1920	tttgccctgg	tcctgggctg	gatgaatgcg	ctgtacttca	cgcgcggggt
gaagctgacg 1980	gggacctaca	gcatcatgat	tcagaagatc	ctcttcaaag	acctcttccg
cttcctgctt 2040	gtgtacctgc	tcttcatgat	cggctatgcc	tcagccctgg	tcaccctcct
gaatccgtgc 2100	accaacatga	aggtctgtga	cgaggaccag	agcaactgca	cggtgcccac
gtatcctgcg 2160	tgccgcgaca	gcgagacctt	cagcgccttc	ctcctggacc	tcttcaagct
caccatcggc 2220	atgggagacc	tggagatgct	gagcagcgcc	aagtaccccg	tggctctcat
cctcctgctg 2280	gtcacctaca	tcctcctcac	cttcgtgctc	ctggtgaaca	tgcttatcgc
cctcatgggt 2340	gagaccgtgg	gccagggtgc	caaggagagc	aagcacatct	ggaagttgca
gtgggccacc 2400	accatcctgg	acatcgagcg	ttccttccct	gtgttcctga	ggaaggcctt
ccgctccgga 2460	gagatgggtga	ctgtgggcaa	gagctcagat	ggcactccgg	accgcagggtg
gtgcttcagg 2520	gtggacgagg	tgaactggtc	tcactggaac	cagaacttgg	gcatcattaa
cgaggaccct 2580	ggcaagagtg	aaatctacca	gtactatggc	ttctcccaca	ccgtggggcg
ccttcgtagg 2640	gatcgtttgt	cctcggttgt	gccccgcgta	gtggagctga	acaagaactc
aagcgcagat 2700	gaagtgggtg	tacccttgga	taacctaggg	aaccccaact	gtgacggcca
ccagcagggc 2760	tacgctccca	agtggaggac	ggacgatgcc	ccactgtagg	ggccgtgcca
gagctcgcac 2820	agatagtcca	ggcttggcct	tcgctcccac	ctacatttag	gcatttgtcc
ggtgtcttcc 2880	cacacccgca	tgggaccttg	gaggtgaggg	cctctgtggc	gactctgtgg
aggccccagg 2940	accctcttgt	ccccgccaa	acttttgcct	tcagctctac	tccccacatg
ggggggcggg 3000	gctcctggct	acctgtctcg	ctcgctccca	tggagtcacc	taagccagca
caaggcccct 3060	ctcctcgaaa	ggctcaggcc	ccatccctct	tgtgtattat	ttattgctct
cctcaggaaa 3120	atgggggtggc	aggagtccac	ccgcggctgg	aacctggcca	gggctgaagc
tcatgcaggg 3180	acgctgcagc	tccgacctgc	cacagatctg	acctgctgca	gccctggcta
gtgtgggtct 3240	tctgtacttt	gaagagatcg	gggccgctgg	tgctcaataa	atgtttattc

tcggtggaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
3300
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaa
3324

<210> 7
<211> 2616
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 7
atggcagatc ctggtgatgg tccccgtgca ggccttgggg aggtggctga gccccctgga 60
gatgagagtg gtacctcttg tggggaggcc ttccccctct cttccctggc caatctgttt 120
gagggggagg aaggctcctc ttctctttcc ccggtggatg ctagccgccc tgetggccct 180
ggcgatggac gtccaaacct gcgtatgaag ttccaggggc ctttccgcaa ggggggtccc 240
aaccaccattg acctgttggg gtccaccogg tacgagtcct cagtagtgcc tgggccaag 300
aaagcgccca tggattcctt gttcgactac ggcacttacc gtcaccacc cagtgaacac 360
aagagatgga ggagaaaggt cgtggagaag cagccacaga gcccacaagc tcctgcaccc 420
cagccacccc ccacctcaa agtcttcaat cggcccatcc tctttgacat tgtgtcccg 480
ggctccactg cggacctaga tggactgctc tccttcttgt tgaccacaa gaagcgctg 540
actgatgagg agttccggga gccgtccacg gggaagacct gcctgcccac ggcgctgctg 600
aacctaagca acggggcgaa cgacaccatc ccggtgttgc tggacattgc ggagcgacc 660
ggcaacatgc gtgaattcat caactcgccc ttcagagaca tctactaccg aggcagaca 720
tccctgcaca ttgccatcga acggcgctgc aagcactacg tggagctgct ggtggcccag 780
ggagccgacg tgcacgccc ggcccgggc cgcttcttcc agcccaagga tgaggaggc 840
tacttctact ttggggagct gcccttgtcc ctggcagcct gcaccaacca gccgcacatc 900
gtcaactacc tgacagagaa cctcacaag aaagctgaca tgaggcgaca ggactcgagg 960
gggaacacgg tgctgcacgc gctggtggcc atcgccgaca acaccgaga gaacaccaag
1020
tttgtcacca agatgtacga cctgctgctt ctcaagtgtt cagcctctt ccccgacagc
1080
aacctggaga cagttctcaa caatgatggc ctttcgcctc tcatgatggc tgccaagaca
1140
ggcaagatcg ggtcttttca gcacatcatc cgacgtgagg tgacagatga ggacaccgg
1200
catctgtctc gcaagttcaa ggactgggccc tatgggcctg tgtattcttc tctctacgac
1260
ctctcctccc tggacacatg cggggaggag gtgtccgtgc tggagatcct ggtgtacaac
1320
agcaagatcg agaaccgcca tgagatgctg gctgtagagc ccattaacga actgttgaga
1380
gacaagtggc gtaagtttgg ggctgtgtcc ttctacatca acgtggtctc ctatctgtgt
1440
gccatgggtca tcttcaccct caccgcctac tatcagccac tggagggcac gccaccctac
1500
ccttaccgga ccacagtgga ctacctgagg ctggctggcg aggtcatcac gctcttcaca
1560
ggagtccctgt tcttctttac cagtatcaaa gacttgttca cgaagaaatg ccctggagtg
1620
aattctctct tcgtcgatgg ctcttccag ttactctact tcatctactc tgtgctggtg
1680
gttgtctctg cggcgctcta cctggctggg atcgaggcct acctggctgt gatggtcttt
1740
gccctgggtcc tgggctggat gaatgcgctg tacttcacgc gcgggttgaa gctgacgggg
1800
acctacagca tcatgattca gaagatcctc ttcaaagacc tcttccgctt cctgcttgtg
1860

tacctgctct 1920	tcatgatcgg	ctatgcctca	gccctgggtca	ccctcctgaa	tccgtgcacc
aacatgaagg 1980	tctgtgacga	ggaccagagc	aactgcacgg	tgccacacgta	tccgtgctgc
cgcgacagcg 2040	agaccttcag	cgccttcctc	ctggacctct	tcaagctcac	catcggcgatg
ggagacctgg 2100	agatgctgag	cagcgccaag	taccccggtg	tcttcatacct	cctgctggtc
acctacatca 2160	tcctcacctt	cgtgctcctg	ttgaacatgc	ttatcgccct	catgggtgag
accgtggggc 2220	aggtgtccaa	ggagagcaag	cacatctgga	agttgcagtg	ggccaccacc
atcctggaca 2280	tcgagcgctc	cttcctctgtg	ttcctgagga	aggccttccg	ctccggagag
atggtgactg 2340	tgggcaagag	ctcagatggc	actccggacc	gcaggtggtg	cttcagggtg
gacgaggtga 2400	actggtctca	ctggaaccag	aacttgggca	tcattaacga	ggaccctggc
aagagtgaag 2460	tctaccagta	ctatggcttc	tccacacaccg	tggggcgccct	tcgtagggat
cgttggtcct 2520	cggtggtgcc	ccgcgtagtg	gagctgaaca	agaactcaag	cgcagatgaa
gtggtggtac 2580	ccctggataa	cctaggggaac	cccaactgtg	acggccacca	gcagggtctac
gctcccaagt 2616		ggaggacgga		cgatgccccca	ctgtag

<210> 8

<211> 2616

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 8

atggcagatc	ctggtgatgg	tccccgtgca	gcgcctgggg	aggtggctga	gccccctgga	60
gatgagagtg	gtacctctgg	tggggaggcc	ttccccctct	cttccctggc	caatctgttt	120
gagggggagg	aaggctcctc	ttctctttcc	ccggtggatg	ctagccgccc	tgctggccct	180
ggcgatggac	gtccaaacct	gcgtatgaag	ttccagggcg	ctttccgcaa	gggggttccc	240
aaccccattg	acctgttgga	gtccaccccg	tacgagtcct	cagtagtgcc	tgggccaag	300
aaagcgccca	tggattcctt	gttcgactac	ggcacttacc	gtcaccaccc	cagtgaaca	360
aagagatgga	ggagaaaggt	cgtggagaag	cagccacaga	gccccaaagc	tcctgcaccc	420
cagccacccc	ccatcctcaa	agtcttcaat	cggcccatcc	tctttgacat	tgtgtcccgg	480
ggctccactg	cggacctaga	tggactgctc	tccttcttgt	tgaccacaaa	gaagcgcttg	540
actgatgagg	agttccggga	gccgtccacg	gggaagacct	gcctgcccga	ggcgctgctg	600
aacctaagca	acgggcgcaa	cgacaccatc	ccggtgttgc	tggacattgc	ggagcgcacc	660
ggcaacatgc	gtgaattcat	caactcgccc	ttcagagaca	tctactaccg	aggccagaca	720
tcctgcaca	ttgccatcga	acggcgctgc	aagcactacg	tggagctgct	ggtggccag	780
ggagccgacg	tgcacgccc	ggcccgcggc	cgcttcttcc	agcccaagga	tgaggggaggc	840
tactttact	ttggggagct	gcccttgtcc	ctggcagcct	gcaccaacca	gccgcacatc	900
gtcaactacc	tgacagagaa	ccctcacaag	aaagctgaca	tgaggcgaca	ggactcgagg	960
gggaacacgg	tgctgcacgc	gctggtggcc	atcgccgaca	acacccgaga	gaacaccaag	1020
tttgtcacca	agatgtacga	cctgctgctt	ctcaagtgtt	cacgcctctt	ccccgacagc	1080
aacctggaga	cagttctcaa	caatgatggc	ctttcgcctc	tcatgatggc	tgccaagaca	1140
ggcaagatcg	gggtctttca	gcacatcatc	cgacgtgagg	tgacagatga	ggacacccgg	1200

catctgtctc 1260	gcaagttcaa	ggactgggcc	tatgggcctg	tgtattcttc	tctctacgac
ctctcctccc 1320	tggacacatg	cggggaggag	gtgtccgtgc	tggagatcct	gggtgtacaac
agcaagatcg 1380	agaaccgcca	tgagatgctg	gctgtagagc	ccattaacga	actgttgaga
gacaagtggc 1440	gtaagtttgg	ggctgtgtcc	ttctacatca	acgtgggtctc	ctatctgtgt
gccatgggtca 1500	tcttcaccct	caccgcctac	tatcagccac	tggagggcac	gccaccctac
ccttaccgga 1560	ccacagtgga	ctacctgagg	ctggctggcg	aggtcatcac	gctcttcaca
ggagtcctgt 1620	tcttctttac	cagtatcaaa	gacttggtca	cgaagaaatg	ccctggagtg
aattctctct 1680	tcgtcgatgg	ctccttccag	ttactctact	tcacttactc	tgtgctggtg
gttggtctctg 1740	cggcgtctta	cctggctggg	atcgaggcct	acctggctgt	gatggtcttt
gccctgggtcc 1800	tgggctggat	gaatgcgctg	tacttcacgc	gcgggttgaa	gctgacgggg
acctacagca 1860	tcatgattca	gaagatcctc	ttcaaagacc	tcttcgcgtt	cctgcttggtg
tacctgctct 1920	tcatgatcgg	ctatgcctca	gccctgggtca	ccctcctgaa	tccgtgcacc
aacatgaagg 1980	tctgtgacga	ggaccagagc	aactgcacgg	tgcccacgta	tcctgctgtgc
cgcgacagcg 2040	agaccttcag	cgccttcctc	ctggacctct	tcaagctcac	catcggcatg
ggagacctgg 2100	agatgctgag	cagcgccaag	taccccggtg	tcttcatcct	cctgctggtc
acctacatca 2160	tcctcacctt	cgtgctcctg	ttgaacatgc	ttatcgccct	catgggtgag
accgtgggcc 2220	aggtgtccaa	ggagagcaag	cacatctgga	agttgcagtg	ggccaccacc
atcctggaca 2280	tcgagcgttc	cttcctgtgt	ttcctgagga	aggccttccg	ctccggagag
atggtgactg 2340	tgggcaagag	ctcagatggc	actccggacc	gcaggtggtg	cttcaggggtg
gacgaggtga 2400	actggtctca	ctggaaccag	aacttgggca	tcattaacga	ggaccctggc
aagagtgaag 2460	tctaccagta	ctatggcttc	tcccacaccg	tggggcgcct	tcgtagggat
cggttggtcct 2520	cggtggtgcc	ccgcgtagtg	gagctgaaca	agaactcaag	cgcagatgaa
gtggtggtac 2580	ccctggataa	cctagggaac	cccaactgtg	acggccacca	gcagggctac
gctcccaagt 2616	ggaggacgga		cgatgccccca		ctgtag

<210> 9

<211> 16

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Primer

<400> 9
cgtctgcact gctcag 16

<210> 10
<211> 15
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Primer

<400> 10
ccttcgctgg aatcc 15

<210> 11
<211> 17
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Primer

<400> 11
gaggagagag gaaaagc 17

<210> 12
<211> 18
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Primer

<400> 12
catgcgcaga tttggtgc 18

<210> 13
<211> 18
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Primer

<400> 13
caccgaggac tcatatag 18

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
20. September 2001 (20.09.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/68698 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **C12N 15/11**,
15/12, 15/62, 5/10, C07K 14/47, 14/705, 16/18, A61K
38/17, 48/00, A01K 67/027, G01N 33/68

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/02837

(22) Internationales Anmeldedatum:
14. März 2001 (14.03.2001)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
100 13 296.0 17. März 2000 (17.03.2000) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): **BOEHRINGER INGELHEIM PHARMA KG**
[DE/DE]; 55216 Ingelheim/ Rhein (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **SCHULTZ, Guenter**
[DE/DE]; Dardanellenweg 30, 12109 Berlin (DE).
PLANT, Timothy [GB/DE]; Potsdamer Str. 16, 12205

Berlin (DE). **STROTMANN, Rainer** [DE/DE]; Goethes-
trasse 20, 12207 Berlin (DE). **HARTENECK, Christian**
[DE/DE]; Mattenbuder Pfad 16, 13503 Berlin (DE).
NUNNENMACHER, Karin [DE/DE]; Strasse am
Schoelerpark 26, 10715 Berlin (DE).

(74) Anwalt: **LAUDIEN, Dieter**; Boehringer Ingelheim
GmbH, 55216 Ingelheim am Rhein (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): CA, JP, MX, US.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): europäisches Patent (AT,
BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,
NL, PT, SE, TR).

Veröffentlicht:
— mit internationalem Recherchenbericht

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen
Recherchenberichts: 20. Juni 2002

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: NON-SELECTIVE CATION CHANNEL

(54) Bezeichnung: NICHTSELEKTIVER KATIONENKANAL

(57) Abstract: The present invention relates to nucleic acids which code for the non-selective cation channel OTRPC4 and to polypeptides which are coded by said nucleic acids. The invention also relates to hosts or host cells that express said polypeptide and to methods for finding blocking agents, activators and modulators of said OTRPC4 cation channels. The invention further relates to blocking agents, activators and modulators of said OTRPC4 cation channels and to pharmaceutical compositions containing said blocking agents, activators and modulators. The invention further relates to non-human mammals that contain OTRPC4 as a transgene, inactivated gene (knock-out) or modified gene (knock-in).

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft Nukleinsäuren, die für den nicht-selektiven Kationenkanal OTRPC4 kodieren, sowie Polypeptide, die durch besagte Nukleinsäuren kodiert werden. Weiterhin betrifft die Erfindung Wirtszellen, die besagtes Polypeptid exprimieren und Verfahren zum Auffinden von Blocker, Aktivator sowie Modulatoren besagter OTRPC4-Kationenkanäle. Die Erfindung umfasst Blocker, Aktivatoren und Modulatoren besagter OTRPC4-Kationenkanäle sowie pharmazeutische Zusammensetzungen enthaltend besagte Blocker, Aktivatoren und Modulatoren. Ausserdem betrifft die Erfindung nicht humane Säuger, die entweder OTRPC4 als Transgen, inaktiviertes Gen (knock-out) oder modifiziertes Gen (knock-in) enthalten.

WO 01/68698 A3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PC1, EP 01/02837

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12N15/11 C12N15/12 C12N15/62 C12N5/10 C07K14/47
C07K14/705 C07K16/18 A61K38/17 A61K48/00 A01K67/027
G01N33/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

SEQUENCE SEARCH, EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE EBI 'Online! AB021875, 3 September 1999 (1999-09-03) SUZUKI, M.: "Mus musculus mRNA for ion channel, complete cds" XP002182927 86.4 % identity with sequence 1 in 2799 nt 99.4 % identity with sequence 5 in 3231 nt --- -/--	1-33, 35-47, 51-67,71

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

15 November 2001

Date of mailing of the international search report

16/01/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040. Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Kurz, B

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 01/02837

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	<p>DATABASE EBI 'Online! AAA29173, 12 September 2000 (2000-09-12) DELANY, N. S. ET AL.: "Human vanilloid receptor 3 coding sequence" XP002182928 99.6 % identity with sequence 1 in 3170 nt 90.8 % identity with sequence 3 in 2616 nt 86.4 % identity with sequence 5 in 2808 nt</p>	1-33, 35-47, 51-67,71
P,X	<p>-& WO 00 32766 A (GLAXO GROUP LTD) 8 June 2000 (2000-06-08) see sequence 4 (= hVR3)</p>	1-33, 35-47, 51-67,71
P,X	<p>DATABASE EBI 'Online! AF263523, 1 November 2000 (2000-11-01) LIEDTKE, W. B. ET AL.: "Homo sapiens vanilloid receptor-related osmotically activated channel (VROAC) mRNA, complete cds" XP002182929 99.6 % identity with sequence 1 in 2843 nt 86.8 % identity with sequence 5 in 2775 nt</p>	1-33, 35-47, 51-67,71
P,X	<p>-& LIEDTKE, W. ET AL.: "Vanilloid receptor-related osmotically activated channel (VR-OAC), a candidate vertebrate osmoreceptor" CELL, vol. 103, October 2000 (2000-10), pages 525-535, XP002182926 the whole document</p>	1-33, 35-47, 51-67,71
E	<p>WO 01 46258 A (INCYTE GENOMICS INC ;AZIMZAI YALDA (US); KHAN FARRAH A (US); REDDY) 28 June 2001 (2001-06-28) . 99.5 % identity (sequence 29) with sequence ID No. 1 in 1836 nt</p>	1-13,15, 17,19, 29-33, 35-37
E	<p>WO 01 34805 A (ABBOTT LAB) 17 May 2001 (2001-05-17) 99.7 % identity in 3173 nt from Position 29-3200 from sequence ID No. 1</p>	1-13,15, 17,19, 21-33, 35-47, 51,58-64
E	<p>WO 01 53348 A (BRISTOL-MYERS SQUIBB CO) 26 July 2001 (2001-07-26) 99.7 % identity in 2412 nt from Position 240-2651 from sequence ID No. 1</p>	1-71

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PC1/EP 01/02837

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>CATERINA ET AL: "A capsaicin-receptor homologue with a high threshold for noxious heat"</p> <p>NATURE, MACMILLAN JOURNALS LTD. LONDON, GB,</p> <p>vol. 398, 1 April 1999 (1999-04-01), pages 436-441, XP002105951</p> <p>ISSN: 0028-0836</p> <p>the whole document</p> <p>---</p>	1-71
A	<p>CATERINA M J ET AL: "THE CAPSAICIN RECEPTOR: A HEAT-ACTIVATED ION CHANNEL IN THE PAIN PATHWAY"</p> <p>NATURE, MACMILLAN JOURNALS LTD. LONDON, GB,</p> <p>vol. 389, 23 October 1997 (1997-10-23), pages 816-824, XP002075020</p> <p>ISSN: 0028-0836</p> <p>the whole document</p> <p>-----</p>	1-71

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP01/02837

The International Searching Authority has established that this international application contains multiple (groups of) inventions as follows:

1. Claim nos.: 1-10 (partly); 12; 13 (partly); 14; 15 (partly); 16; 17 (partly); 18; 19, 21-47, 51-67, 71 (all partly)

Nucleic acids according to seq. ID nos. 1-4 which code for the human ion channel OTRPC4 and use thereof.

2. Claim nos.: 1-10 (partly); 11; 13, 15, 17 (each partly); 18; 19 (partly); 20; 21-47, 51-67, 71 (each partly)

Nucleic acids according to seq. ID nos. 5-8 which code for the murine ion channel OTRPC4 and use thereof.

Attention is drawn to the fact that seq. ID nos. 3 and 4 are sub-sequences of seq. ID nos. 1 and 2 and that seq. ID nos. 7 and 8 are sub-sequences of seq. ID nos. 5 and 6.

This fact could result in further objections as to the uniformity of the invention.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP01/02837

Continued from box 1.2

Claim nos.: 34, 48-50, 68-70

1. Claim 34 relates to a polypeptide which is supposed to be a variant of the non-selective cation channel because of the degenerative nucleic acid code.

The claim is unclear in the sense that in general wording, the nucleic acid code is degenerated. The term "degenerative" is therefore unclear. The term "degenerated nucleic acid code" also refers to the possibility of producing identical amino acid sequences despite the different DNA sequence. Therefore, the degenerated code in now way leads to variants of a polypeptide.

These problems make it impossible to even identify the subject matter of claim 34, making a search impossible.

2. Claims 48-50 and 68-70 relate to activators, blockers and modulators of the ion channel described as OTRPC4 and to their use.

Substances of this type are not described in the present invention. In the absence of technical features of the claimed substances, a search is impossible. The cited claims are purely speculative and fundamentally, only represent the result.

The applicant is advised that patent claims relating to inventions for which no international search has been produced cannot normally be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)).

As a general rule, the EPO in its capacity as the authority entrusted with the task of carrying out an international preliminary examination will not conduct a preliminary examination for subjects in respect of which no search has been provided. This also applies to cases where the patent claims were amended after receipt of the international search report (PCT Article 19) or to cases where the applicant presents new patent claims in the course of the PCT Chapter II procedure.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 01/02837

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
WO 0032766	A	08-06-2000	AU	1968400 A		19-06-2000
			WO	0032766 A1		08-06-2000
			EP	1135490 A1		26-09-2001
WO 0146258	A	28-06-2001	AU	2736101 A		03-07-2001
			WO	0146258 A2		28-06-2001
WO 0134805	A	17-05-2001	EP	1144628 A2		17-10-2001
			WO	0134805 A2		17-05-2001
WO 0153348	A	26-07-2001	WO	0153348 A2		26-07-2001

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 01/02837

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 7 C12N15/11 C12N15/12 C12N15/62 C12N5/10 C07K14/47 C07K14/705 C07K16/18 A61K38/17 A61K48/00 A01K67/027 G01N33/68					
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK					
B. RECHERCHIERTE GEBIETE Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 7 C07K					
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen					
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) SEQUENCE SEARCH, EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS					
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN					
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile				Betr. Anspruch Nr.
X	DATABASE EBI 'Online! AB021875, 3. September 1999 (1999-09-03) SUZUKI, M.: "Mus musculus mRNA for ion channel, complete cds" XP002182927 86,4 % Identität mit Seq. 1 in 2799 nt 99,4 % Identität mit Seq. 5 in 3231 nt --- -/--				1-33, 35-47, 51-67,71
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie					
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist *Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist					
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche			Absendedatum des internationalen Recherchenberichts		
15. November 2001			16/01/2002		
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo.nl Fax: (+31-70) 340-3016			Bevollmächtigter Bediensteter Kurz, B		

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P,X	<p>DATABASE EBI 'Online! AAA29173, 12. September 2000 (2000-09-12) DELANY, N. S. ET AL.: "Human vanilloid receptor 3 coding sequence" XP002182928 99,6% Identität mit Seq. 1 in 3170 nt 90,8% Identität mit Seq. 3 in 2616 nt 86,4 % Identität mit Seq. 5 in 2808 nt</p>	1-33, 35-47, 51-67,71
P,X	<p>-& WO 00 32766 A (GLAXO GROUP LTD) 8. Juni 2000 (2000-06-08)</p> <p>siehe Sequenz 4 (= hVR3)</p>	1-33, 35-47, 51-67,71
P,X	<p>DATABASE EBI 'Online! AF263523, 1. November 2000 (2000-11-01) LIEDTKE, W. B. ET AL.: "Homo sapiens vanilloid receptor-related osmotically activated channel (VROAC) mRNA, complete cds" XP002182929 99,6 % Identität mit Seq. 1 in 2843 nt 86,8 % Identität mit Seq. 5 in 2775 nt</p>	1-33, 35-47, 51-67,71
P,X	<p>-& LIEDTKE, W. ET AL.: "Vanilloid receptor-related osmotically activated channel (VR-OAC), a candidate vertebrate osmoreceptor" CELL, Bd. 103, Oktober 2000 (2000-10), Seiten 525-535, XP002182926 das ganze Dokument</p>	1-33, 35-47, 51-67,71
E	<p>WO 01 46258 A (INCYTE GENOMICS INC ;AZIMZAI YALDA (US); KHAN FARRAH A (US); REDDY) 28. Juni 2001 (2001-06-28)</p> <p>99,5 % Identität (Seq. 29) mit Seq. ID Nr. 1 in 1836 nt</p>	1-13,15, 17,19, 29-33, 35-37
E	<p>WO 01 34805 A (ABBOTT LAB) 17. Mai 2001 (2001-05-17)</p> <p>99,7 % Identität in 3173 nt von Position 29-3200 von Seq. ID Nr. 1</p>	1-13,15, 17,19, 21-33, 35-47, 51,58-64
E	<p>WO 01 53348 A (BRISTOL-MYERS SQUIBB CO) 26. Juli 2001 (2001-07-26) 99,7 % Identität in 2412 nt von Position 240-2651 von Seq. ID Nr. 1</p>	1-71
	<p>---</p> <p>-/--</p>	

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	CATERINA ET AL: "A capsaicin-receptor homologue with a high threshold for noxious heat" NATURE, MACMILLAN JOURNALS LTD. LONDON, GB, Bd. 398, 1. April 1999 (1999-04-01), Seiten 436-441, XP002105951 ISSN: 0028-0836 das ganze Dokument ---	1-71
A	CATERINA M J ET AL: "THE CAPSAICIN RECEPTOR: A HEAT-ACTIVATED ION CHANNEL IN THE PAIN PATHWAY" NATURE, MACMILLAN JOURNALS LTD. LONDON, GB, Bd. 389, 23. Oktober 1997 (1997-10-23), Seiten 816-824, XP002075020 ISSN: 0028-0836 das ganze Dokument -----	1-71

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.2

Ansprüche Nr.: 34, 48-50, 68-70

1. Anspruch 34 bezieht sich auf ein Polypeptid, das eine Variante des nicht-selektiven Kationenkanals aufgrund des degenerativen Nukleinsäure-Kodes sein soll.

Der Anspruch ist dahingehend unklar, als nach allgemeiner Sprachregelung der Nukleinsäurekode degeneriert ist. Die Formulierung "degenerativ" ist daher unklar. Desweiteren bezieht sich die Bezeichnung degenerierter Nukleinsäurekode darauf, dass trotz unterschiedlicher DNA-Sequenz identische Aminosäuresequenzen hergestellt werden können. Der degenerierte Kode führt also auf keinen Fall zu Varianten eines Polypeptids.

Die genannten Probleme machen es unmöglich, überhaupt den Gegenstand von Anspruch 34 zu identifizieren. Somit ist eine Recherche nicht möglich.

2. Die Ansprüche 48-50 und 68-70 beziehen sich auf Aktivatoren, Blocker und Modulatoren des als OTRPC4 bezeichneten Ionenkanals, sowie auf deren Verwendung.

Stoffe dieser Art werden in der vorliegenden Anmeldung nicht beschrieben. In Abwesenheit technischer Merkmale der beanspruchten Stoffe ist eine Recherche jedoch unmöglich. Die zitierten Ansprüche sind rein spekulativ und stellen im Grunde genommen nur das gewünschte Resultat dar.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß Patentansprüche, oder Teile von Patentansprüchen, auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, daß die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, daß der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentansprüche vorlegt.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 1-10 (teilweise); 12; 13 (teilweise); 14; 15 (teilweise); 16; 17 (teilweise); 18; 19, 21-47, 51-67, 71 (alle teilweise)

Nukleinsäuren gemäss Seq. ID Nr. 1-4, die für den menschlichen Ionenkanal OTRPC4 codieren und ihre Verwendung.

2. Ansprüche: 1-10 (teilweise); 11; 13, 15, 17 (jeweils teilweise); 18; 19 (teilweise); 20; 21-47, 51-67, 71 (jeweils teilweise)

Nukleinsäuren gemäss Seq. ID Nr. 5-8, die für den murinen Ionenkanal OTRPC4 codieren und ihre Verwendung.

Es wird darauf hingewiesen, dass die Seq. ID. Nr. 3 und 4 Subsequenzen von Seq ID. Nr. 1 und 2 sind, und dass ebenso die Seq. ID. Nr. 7 und 8 Subsequenzen der Seq. ID. Nr. 5 und 6 sind.

Aus dieser Tatsache können weitere Einwände bezüglich Einheitlichkeit der Erfindung resultieren.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 01/02837

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 0032766	A	08-06-2000	AU	1968400 A	19-06-2000
			WO	0032766 A1	08-06-2000
			EP	1135490 A1	26-09-2001
WO 0146258	A	28-06-2001	AU	2736101 A	03-07-2001
			WO	0146258 A2	28-06-2001
WO 0134805	A	17-05-2001	EP	1144628 A2	17-10-2001
			WO	0134805 A2	17-05-2001
WO 0153348	A	26-07-2001	WO	0153348 A2	26-07-2001

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☒ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☒ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

This Page Blank (uspto)